

발간등록번호

11-1543000-001493-01

100% 식물성 미네랄로 구성된
저나트륨 소금대체 소재개발 및
수출전략 상품화

(Development of low-sodium salt substitute material
composed of 100% phyto-mineral and
commercialization of its export strategy)

(주)파이토코퍼레이션

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “100% 식물성 미네랄로 구성된 저나트륨 소금대체 소재개발 및 수출전략 상품화”(개발기간 : 2014 09. 25 ~ 2016. 09. 24)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2016. 11. 08.

주관연구기관명 : (주)파이토코퍼레이션 (대표자) 김 득 회 (인)

주관연구책임자 : 김 득 회
책 임 연 구 원 : 조 은 아
책 임 연 구 원 : 권 미 향
연 구 원 : 윤 현 주

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	114087-2	해당 단계 연구 기간	2015.09.25.~ 2016.09.24	단 계 구 분	2차년도/ 총 2년 과제
연구 사업 명	중 사업 명	수출전략기술개발사업			
	세부 사업명				
연구 과제 명	대 과제 명				
	세부 과제명	100% 식물성 미네랄로 구성된 저나트륨 소금대체 소재개발 및 수출전략 상품화			
연구 책임자	김 득 회	해당단계 참여 연구원 수	총: 4 명 내부: 4 명 외부: 명	해당단계 연구 개발비	정부:130,000천원 민간: 43,334천원 계:173,334천원
		총 연구기간 참여 연구원 수	총: 7 명 내부: 7 명 외부: 명	총 연구개발비	정부:260,000천원 민간: 86,668천원 계:346,668천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)파이토코퍼레이션			참여기업명	
위탁 연구	연구기관명:			연구책임자:	
<p>본 연구과제를 통해 개발된 Phytosalt 제품은 광물성의 일반 소금과는 달리 순 100% 식물에서 유래한 소금대체재로서, 염생식물이 바닷물의 염농도에 견디며 스스로 체내에 균형을 이룬 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 철분 등의 미네랄들을 그대로 함유하고 있는 제품임. 이는 소금의 섭취에 의해 고혈압 등의 발생이라는 상식을 깨고 오히려 고혈압을 방지하는 데에 도움을 줄 수 있는 가능성을 갖춘 전세계에 유일한 100% 식물성 소금대체제임. 이를 식품에 적용하는데 적합하도록 제형의 변화, 맛의 변화 등 세분화하여 개발함으로써 시제품 생산에서부터 해외 유명 식품회사들의 주목을 받고 있는 수출전략형 제품으로의 개발임.</p>				보고서 면수 <p style="text-align: right;">104</p>	

〈국문 요약문〉

	코드번호	D-01			
연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 염화나트륨(NaCl) 함량 30-50% 이상 줄인 ‘저나트륨 식물성 소금대체재’ 기술개발 및 수출 상품화 ○ 통통마디의 식물성 미네랄성분 추출, 정제공정 최적화를 통한 식물성 소금대체 소재화 기술개발 및 수출 상품화 ○ 다양한 고객층의 Needs에 부합하기 위하여, 식물성 소금대체재의 염도 다양화 (세분화) 기술 개발 및 수출 상품화 ○ 식물성 소금대체재의 대량생산 공정 개발 ○ 글로벌 식품회사 등과 식물성소금대체재 맛의 다양화에 대한 공동연구 및 수출 상품화(open Innovation Project) 				
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 염화나트륨(NaCl) 함량 30-50% 이상 줄인 저나트륨 식물성 소금대체재 기술 개발 및 수출상품화 ○ 통통마디의 식물성 미네랄성분 추출 및 공정 최적화 ○ 통통마디 추출액의 정제 및 건조공정 최적화 ○ 식물성 소금대체재의 미네랄과 유기물의 함량 비율을 조절함으로써 염도를 다양화 ○ 식물성소금대체재의 입도제어를 통한 염미 강도 조절 ○ Pilot Test를 통한 대량생산 공정 개발 ○ 식물성 소금대체재의 관능평가 및 저장안정성 평가 ○ 식물성 소금대체재의 건강기능성을 입증하는 동물실험을 위한 샘플 개발 ○ 글로벌 식품회사 등과 식물성소금대체재 맛의 다양화에 대한 공동연구 수행 (Open Innovation Project) 				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 식물성 유기 미네랄 소금 대체재 국내외 신 시장 개척 및 경제적 효과 ○ 신소재 식물성 유기미네랄 소금 대체재 개발을 위한 최적 제조공정 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 통통마디의 유기미네랄 추출공정 최적화 및 수율 제고 - 이미 이취 제거 및 기호도 증진을 통한 상품성 제고 ○ 식물성 유기미네랄 급원으로서의 통통마디의 활용을 통한 국민건강증진 ○ 폐 염전, 해안가의 유허 토지 등 경제성이 없는 간척지 및 고염도 농지의 통통마디 재배를 통한 농가수익 증대 효과 도모 				
중심어 (5개 이내)	식물성 미네랄	소금대체재	저나트륨	신 식품소재	수출전략상품

< SUMMARY >

		코드번호	D-02		
Research Objectives & Contents	<ul style="list-style-type: none"> ○ Technology development and export commercialization of ‘low sodium substitute’, composed of 35-50%-reduced NaCl ○ Optimization in the process of extraction and purification for development of phyto-salt substitute ○ Technology development and export commercialization for diverse customer based needs and salinity ○ Development of mass production of phyto-salt substitute ○ Collaboration and export commercialization with global food company for diverse taste of phyto-salt substitute (open Innovation Project) 				
Project Achievements	<ul style="list-style-type: none"> ○ Technology development and export commercialization of ‘low sodium substitute’, composed of 35-50%-reduced NaCl ○ Optimization for mineral extraction from <i>Salicornia europaea</i> ○ Optimization for the process of drying and purification of <i>Salicornia europaea</i>-derived extracts ○ Salinity diversification through regulation of mineral and organic compounds found in phyto-salt substitute ○ Salinity regulation through grain control of phyto-salt substitute ○ Mass production development through pilot test ○ Evaluation for palatability and shelf-life of phyto-salt substitute ○ Sample preparation for animal study to show health functionality of phyto-salt substitute ○ Open innovation project with global food companies for taste improvement and diverse palatability 				
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> ○ Pioneering in domestic and international markets and economic boosting by phyto-salt substitute ○ Optimization of manufacturing process for development of phyto-salt substitute, which is new food material <ul style="list-style-type: none"> - Extraction process optimization and yield improvement of <i>Salicornia europaea</i>-derived organic mineral - Enhancement of commercial quality through removal of off-taste and off-flavor with palatability improvement ○ National health promotion through consumption of phyto-organic mineral derived from <i>Salicornia europaea</i> ○ Farm revenue raising effect through utilization of discarded salt pond, unused coastal and reclaimed land, which have no economic value 				
Key words	phyto-mineral	salt substitute	low-sodium	new food material	strategic export product

< Contents >

Chapter 1	Project Overview	7
Chapter 2	Current Status in Technology Development of Related Project in Domestic and Overseas	12
Chapter 3	Contents and Results of the Project	16
Section 1	Contents of Research and Development	16
1.	Major contents of research and development	16
2.	Methods of research	16
3.	Strategies and methods	23
Section 2	Fulfillment Results of R & D	25
1.	Manufacturing technology development of low-sodium phyto-salt substitute	25
2.	Optimization in extraction of <i>Salicornia europaea</i>	26
3.	Technology development in salinity diversification of phyto-salt substitute	47
4.	Actual cooperation and sample test with global food companies	55
5.	Preclinical study for anti-hypertension effect of phyto-salt substitute	56
6.	Diversification of physical properties and shape in phyto-salt substitute	60
7.	Salinity strength regulation through dry process and grain control	63
8.	Inhibition process development in oxidation-induced rancid flavor and browning	65
9.	Process development for mass production of phyto-salt	67
10.	Palatability improvement of phyto-salt	68
11.	Collaboration with global food companies and product development for export	73
12.	Development of bioactivity-increased phyto-salt substitute	74
13.	Verification of anti-obesity and body fat-lowering effects through animal study	78
Section 3	Project Achievements	88
Chapter 4	Project Achievements and Contributions to Related Fields	90
Chapter 5	Application Planning of Research Results	95
Chapter 6	Collected New Science and Technology Information of Project in Overseas	99
Chapter 7	Security Grade of Project Achievements	100
Chapter 8	Research Facilities and Equipment Status Registered in National Science and Technology Information System	100
Chapter 9	Lab Safeguards Implementation in the Process of the Project Performance	101
Chapter 10	Major Research Performance of the Project	103
Chapter 11	References	104

<Attached> Self-Evaluation Report

〈 목 차 〉

제 1 장. 연구개발과제의개요	7
제 2 장. 국내외 기술개발 현황	12
제 3 장. 연구수행 내용 및 결과	16
제 1절 연구개발 수행 내용	16
1. 주요 연구개발 수행 내용	16
2. 연구방법	16
3. 추진전략 및 방법	23
제 2절 연구개발 수행 결과	25
1. 저나트륨 식물성 소금대체재 제조기술 개발	25
2. 통통마디의 추출 기술 최적화	26
3. 식물성 소금대체재의 염도 다양화 기술 개발	47
4. 글로벌 식품회사와의 샘플 테스트 및 업무 협력 실적	55
5. 기능성 검증을 위한 전임상 실험 수행	56
6. 식물성 소금대체재의 물성 및 제형 다양화	60
7. 건조공정 및 입도제어를 통한 염미 강도 조절	63
8. 산화에 의한 갈변 및 산화취 억제 공정 개발	65
9. 식물성 소금대체재의 대량 생산을 위한 공정 개발	67
10. 식물성 소금대체재의 기호성 개선	68
11. 글로벌 식품회사와의 공동연구 및 수출상품화	73
12. 기능성이 강화된 소금대체재 개발	74
13. 동물실험을 통한 건강 기능성 규명	78
제 3절 연구개발 성과	88
제 4 장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	90
제 5 장. 연구결과의 활용계획 등	95
제 6 장. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	99
제 7 장. 연구개발성과의 보안등급	100
제 8 장. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	100
제 9 장. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	101
제 10장. 연구개발과제의 대표적 연구실적	103
제 11장. 참고문헌	104

<별첨> 자체평가의견서

제 1 장. 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

1. 개발대상 원료의 특성

- 통통마디(참초: *Salicornia europaea*)는 명아주과에 속하는 염생식물로 바닷가, 간척지 등에서 자생 또는 재배되는 1년생 초본 식물로서 다량의 소금성분(NaCl, KCl)을 함유하고 있음. 칼슘, 마그네슘, 칼륨 등 다량의 미네랄을 함유하여 ‘미네랄의 보고’라고 불림. 또한 인체에 필수적인 아미노산을 다량 함유하고 있음



- 예로부터 통통마디는 몸 안에 쌓인 독소와 숙변을 없애고, 암, 고혈압, 당뇨병, 피부병, 관절염 등을 치료하기 위한 민간요법으로 활용되어 왔음
- 최근 통통마디의 생리활성으로는 항심혈관계 질환, 항고혈압, 항당뇨, 항산화, 항암, 항고지혈, 그리고 면역 조절 기능 등이 80여 편의 학술논문으로 발표됨
- 원료 작물(통통마디)의 수급이 매우 용이하고 담수가 아닌 해수로 경작하므로 물이 부족한 지역에서도 재배가 가능하여 원료 수급이 용이하다는 장점이 있음
- 또한 통통마디는 바닷물을 먹고 자라기 때문에 ‘비료’를 줄 필요 없고, 체내 염도가 높아 병충해가 없어 ‘농약’이 필요 없는 친환경/ 지속가능한 작물임
- 통통마디는 한국을 비롯하여 미국, 유럽 등 세계 도처에서 자생 또는 재배되고 있으며 특히 아열대 및 열대지역에서는 ‘3모작’이 가능하며, 물부족과 식량부족시대에 적합한 ‘해수농업(Seawater Agriculture)’의 최적 모델임

2. 기술(제품)개발의 필요성 및 중요성

가. 저 나트륨 소금 개발 필요성 증대

- 2013년 세계보건기구(WHO)에 의하면 전 세계에서 약 10억 명이 고혈압 관련 질병을 앓고 있고 940만 명이 심혈관 질환으로 사망하고 있음. WHO는 고혈압의 원인으로 과다 소금 섭취를 지목하고 다양한 “소금 덜 먹기(consuming less salt)” 운동을 전개하고 있음
- WHO에서는 만성질환 예방을 위해 하루 나트륨 섭취 목표량을 2,000 mg으로 정하였으며, 우리나라도 식품의약품안전처에서도 동일한 수준인 2,000 mg으로 나트륨의 목표섭취

량을 정했으나 실제로 우리나라국민은 2011년 기준 4,831 mg 을 섭취하여 기준량의 2.4 배를 섭취하고 있는 것으로 나타났음 (식품의약품안전처 나트륨 줄이기 운동본부, 2013)

- 식품의약품안전처는 한국인의 사망원인 1위에서 3위는 나트륨 과잉섭취와 관련된 질병인 암, 뇌혈관질환, 심장질환으로 나트륨 섭취를 3,000 mg 으로 낮출 경우 의료비용 절감 3조원, 사망감소에 따른 노동력 재생산 10조원 등 사회·경제적 편익 비용으로 13조의 절감효과가 있다고 발표함(부산시청 홈페이지, 식품의약품안전처 나트륨 줄이기 운동본부 홈페이지, 2013)
- 외국 정부와 해외 우수 식품기업들도 나트륨 섭취량을 줄이기 위한 다양한 노력을 경주하고 있음. 특히 유명 글로벌 식품회사들도 많은 연구비를 투자하여 ‘저나트륨 소금’을 개발하기 위한 연구를 진행 중이지만 아직 인체에 무해한 소금 대체제가 개발되지 않고 있음

나. 현재 저나트륨 소금시장 트렌드 및 문제점

- 현재 소금시장에는 정제염, 인공감미 맛소금, 구운소금, 허브소금, 천일염, 죽염, 프리미엄 소금 등이 시판되고 있으나 소금함량을 낮춘 저나트륨 소금(low-sodium salt)이 시장의 트렌드를 리드하고 있음



- 저나트륨 소금은 소금의 나트륨(염화나트륨) 함량을 낮추고 대신 짠맛을 보충하기 위해 염화칼륨을 다량 첨가한 소금으로 고칼륨 소금(High-Potassium Salt)이라고 불리움

- 저나트륨소금은 ‘나트륨 대 칼륨’의 함량비가 ‘0:1~1.5:1’ (주로 1:1)로 칼륨의 함량이 지나치게 높음

- 현재 유명 저나트륨 소금으로 C사의 팬솔트(Pan Salt), D사의 ½ 나트륨 솔트, Morton Lite Salt, No Salt, Salt for Life, LoSalt, Morton Salt Substitute, Nu-Salt, LoSoL, So-Low, Diamond Crystal Salt Sense, Salt for Life 등이 시판되고 있음



Low-Sodium Salts
= High-Potassium Salts
= Potassium Salt Substitutes

○ 저나트륨 소금은 칼륨의 과다 함유로 고칼륨혈증을 일으켜 신장이 좋지 않은 사람에게 치명적일 수 있는 문제점이 있어서 전세계적으로, 저나트륨 소금은 “건강하지 않은 경우 의사의 승인을 얻은 후 사용하라” 는 ‘식약청 경고 문구’를 표기하여 판매하고 있음

○ 참고자료:

A. 저나트륨 소금, 건강에 오히려 ‘독’ : 2009년 07월 27일 동아일보

<http://news.donga.com/3/all/20090727/8760100/1>

“신장 기능이 약한 심장병 환자나 어린이들이 칼륨을 과다 섭취하면 건강에 위협이 될 수 있다. 칼륨이 정상적으로 배출되지 못하고 체내에 쌓이면 ‘고칼륨혈증’ 등 질환이 올 수 있고 호흡 곤란, 근육 마비 등의 증상이 나타날 수도 있기 때문이다. 특히 만성신장병 환자들은 극심하면 심장마비를 일으킬 수도 있다.”

B. Salt Substitute Health Risks

<http://www.livestrong.com/article/368914-salt-substitute-health-risks/>

Life-Threatening Side Effects

“High potassium levels, called hyperkalemia, can cause the heart to beat irregularly or very slowly. In rare cases, this can lead to cardiac arrest and death. Severe hyperkalemia requires hospital treatment with intravenous calcium, glucose and insulin. Patients also might need dialysis to remove excess potassium.”

C. Potassium Salt Substitutes

<http://www.livestrong.com/article/112551-potassium-salt-substitutes/>

Dangers of Potassium Salt Substitutes:

Hyperkalemia can be deadly. Medication interactions with potassium salt substitutes can be dangerous to the body.

다. 식물성소금대체재 개발의 필요성

○ 식물성 소금대체재는 기존 저나트륨 소금의 문제점들을 해결하는 완벽한 ‘저나트륨 소금’임

- 식물성소금대체재는 적정량의 칼륨(K)을 함유함으로 나트륨 대 칼륨의 밸런스는, 염 스트레스를 이겨내는 완벽한 함량비율인 ‘4:1~5:1’임

- 식물성소금대체재는 적정량의 칼륨(K)을 함유함으로, 나트륨과 칼륨 이온의 용해도의 차를 이용하여 나트륨(Na)의 함량 비율을 줄일 수 있으며 염화나트륨 함량 30%~50% 줄인 저나트륨 식물성 소금대체재임

○ 2013년 세계 소금 시장 수요는 2015년까지 년 평균 2.9%의 비율로 성장하여 2015년에

327백만톤에 달하고 이를 금액으로 환산하면 130.4억불이 될 것으로 예측하고 있음
(Freedonia, World salt to 2015, Feb. 2012)

- 다수의 글로벌 식품기업들이 식물성소금대체재에 관심을 갖고 저나트륨 소금 대체재 개발에 많은 투자를 하고 있음

라. 국내외 식물성소금대체재 개발 기술 현황

- 그동안 통통마디라는 원료 자체가 생소하여 식물성소금대체재에 대한 유사 기술개발이 활발하지 않음
- 2001년에 개발된 식물성 소금은 통통마디, 칠면초 등의 염생식물로부터 추출한 액상소금(김원대, 특허등록번호:10-2001-0083037)으로 ‘간장’ 형태를 띠고 있으며 색깔, 이취, 이미 등이 제거되지 않아 상품 가치가 떨어져 상품화가 이뤄지지 않았음
- 2002년에는 통통마디를 불에 태워(회화) 식물성 소금을 제조하는 기술(김원대: 특허 등록번호:10-0448673)이 개발되었으나 이는 나트륨 함량이 지나치게 높고, 인체에 유익한 유기영양소들이 모두 타 없어진 소금으로 상품화되지 못하였음
- 최근 국내에서 ‘함초소금’의 이름으로 관련 제품이 출시되고 있으나 이는 대부분 통통마디 추출물 일부(5%)와 천일염(95%)을 혼합한 제품으로, ‘100% 순식물성 소금 대체재’는 아직 개발되지 않았음
- 당사는 2007년 세계최초로 통통마디로부터 100% 식물성 소금 대체재(파이토솔트)를 개발하는 데 성공하였으며 우리나라, 미국, 일본, 유럽, 인도, 중국 등지에서 물질특허를 취득하였음(이들 지역의 전체 인구는 약 36억 명으로 세계 인구의 절반을 상회함)
- 기능성식품 임상시험센터에서 식물성소금대체재의 고혈압 효능에 대한 전임상시험을 한 결과, "식물성소금대체재 (파이토솔트)가 고혈압에 효과가 크다"고 밝혀짐(전북대병원 기능성식품임상시험지원센터 보고서 #E-20071201 - 통통마디유래 phytosalt가 랫트(SHR)의 혈압에 미치는 영향)
- 그동안 Global 식품기업들이 ‘식물성 소금대체재(파이토솔트)’에 관심을 가지고 자사 제품 적용 샘플테스트를 요청해 옴
- 글로벌 식품기업에서 식물성소금대체재(파이토솔트)를 기존 소금의 문제점들을 해결할 수 있는 유일한 솔루션으로 선정하고 대량구매 의향을 밝힌 LOI 체결하고 공동연구를 제의받음

마. 식물성 소금의 수출 전략 상품 개발 필요성

- 당사는 현재 식물성소금대체재(파이토솔트)의 원천기술에 대한 글로벌 특허를 보유하고 있으나, 기술 개발의 정도는 실험실에서 개발된 concept proof 샘플 정도의 수준임. 향후 글로벌 식품으로 성장하기 위해서는 현재의 제품을 글로벌 제품 개발 수준으로 향상시키기 위한 품질 개선 및 최적 공정 연구가 필요함
- 또한 동물실험을 통한 개발된 제품의 기능 및 안정성 검사를 통한 국제 수준의 품질 확보 연구도 필요한 사항임
- 본 연구가 수행되어 국제 품질의 순 식물성 저나트륨 소금 대체재가 성공적으로 개발되면 세계 유수의 글로벌 식품회사는 물론이고 각국의 학교, 병원, 군대 등의 단체, 그리고 건강을 중시하는 가정 등 모든 분야에 공급될 수 있을 것으로 기대됨
- 국제 비즈니스 시장 조사 권위 기관인 Freedonia 에 의하면 2013년 세계 소금 시장 수요는 2015년까지 년 평균 2.9%의 비율로 성장하여 2015년에 327백만톤에 달하고 이를 금액으로 환산하면 130.4억불이 될 것으로 예측하고 있음(Freedonia, World salt to 2015, Feb. 2012)
- 이러한 방대한 세계 시장에서 급증하는 저 나트륨 소금 수요에 대처하고 이 분야 세계 시장 선점을 위한 본 연구의 시급성 및 중요성이 매우 높다고 하겠음



제 2 장. 국내외 기술개발 현황

코드번호

D-04

1. 국내기술개발현황

- 2006년 국내 소금 소비량 316만톤 가운데 식품용은 16%인 57만톤 규모이며 천일염 42%(24만톤), 수입염 40%(23만톤), 정제염 16%(10만톤) 임
- 국내 조리용 소금시장의 규모는 2006년 기준으로 약 2,200억원이며 기능성 소금의 비율은 10% 정도임
- 국내 저염기술 관련 특허현황을 보면 1995년 염화칼륨 식염 특허가 출원되었으며 이후 2005년 식물추출액 분말을 혼합한 소금대체 조성물 특허가 출원되었음. 이후 염화칼륨 혹은 천연물 추출물을 이용한 식염대체재 관련 특허가 매년 2~3개씩 출원되고 있음

표. 국내 저염기술 관련 특허 사례 (보건산업진흥원, 2012)

No.	특허 출원번호	등록 여부	특허명	내용
1	10-2006 -0015234	등록 (소멸)	알칼리성분이 풍부한 식품첨가제 및 그 제조방법	천일염과 염화칼륨 혼합용액에 알칼리수를 분사하여 알칼리 성분이 풍부한 식품첨가제를 제조함
2	10-2005 -005075	등록	고혈압 환자를 위한 소금 대체용 식물추출액분말의 혼합 조성물 제조	식물로부터 추출하여 저나트륨 식물추출액분말 혼합조성물을 제조함
3	10-2004 -017297	등록	조미용 물소금 및 조미용 물소금의 제조방법	염화칼륨, 아미노산, 유기산 당류를 포함 조미용 액상 소금
4	10-1994 -0025393	등록 (소멸)	기능성 식염 조성물	식염과 염화칼륨 혼합물에 구연산 나트륨을 첨가하고 조미성분, 비타민 및 미네랄 등의 강화제를 함유한 기능성 식염 조성물

- 2001년에 개발된 식물성 소금은 통통마디, 칠면초 등의 염생식물로부터 추출한 액상소금(김원대, 특허등록번호:10-2001-0083037)으로 ‘간장’ 형태를 띠고 있으며 색깔, 이취, 이미 등이 제거되지 않아 상품 가치가 떨어져 상품화가 이뤄지지 않았음
- 2002년에는 통통마디를 불에 태워(회화) 식물성 소금을 제조하는 기술(김원대: 특허등록번호:10-0448673)이 개발되었으나 이는 나트륨 함량이 지나치게 높고, 인체에 유익한 유기영양소들이 모두 타 없어진 소금으로 상품화되지 못하였음
- 현재 시판중인 통통마디 관련 소금제품은 통통마디 추출물을 천일염이나 정제염에 뿌리거나 통통마디 분말을 일반 소금과 섞은 형태로서 100% 통통마디만을 원료로 제조한 소

금제품은 없음

- 계명대 정용진 교수팀은 콩을 발효하는 과정에서 소금의 나트륨 함량을 25%이상 낮추면서 짠맛을 유지해주는 ‘염미성 펩타이드’를 개발함. 아직은 상용화단계에 있고, 나트륨의 함량을 낮춘 소금 자체가 아니고 짠 맛을 유지하는데 도움을 주는 물질로서 식품 적용에 한계가 있음 (매일신문,2015)
- (주)마린바이오프로세스에서 개발된 ‘디나솔트’는 미생물 발효를 이용하여 나트륨을 20% 저감한 소금으로 현재 판매중임

2. 국외기술개발현황

- 2013년 세계 소금 시장 수요는 2015년까지 년 평균 2.9%의 비율로 성장하여 2015년에 327백만톤에 달하고 이를 금액으로 환산하면 130.4억불이 될 것으로 예측되고 있음 (Freedonia, World salt to 2015, Feb. 2012)
- 국외에서는 70% 이상이 우리나라 정제염과 유사한 소금을 섭취하고 있으며 천일염, 암염 등을 정제 또는 함수에 세척하여 불순물을 제거한 후 사용하고 있음
- 핀란드의 경우 저나트륨 소금으로서 칼륨의 함유량을 증가시켜 염화나트륨 함량을 56%로 줄인 팬솔트는 자국내 소금시장의 41%를 차지하고 미국, 영국, 독일, 일본 등 현재 20여 개 국에서 저나트륨염으로 판매되고 있음(그러나 과도한 칼륨 함유로 최근 FDA권고로 ‘신장환자는 의사상담후 섭취’라는 경고문구 게재)
- 세계적으로 저 나트륨 관련제품의 출시는 지속적으로 높은 수준을 유지하고 있음. 출시 현황을 보면 2008년 1,819건, 2009년 2,346건, 2010년 2,701건, 2012년 2,704 건이 출시되었고, 출시 건수가 매년 지속적으로 증가하고 있음

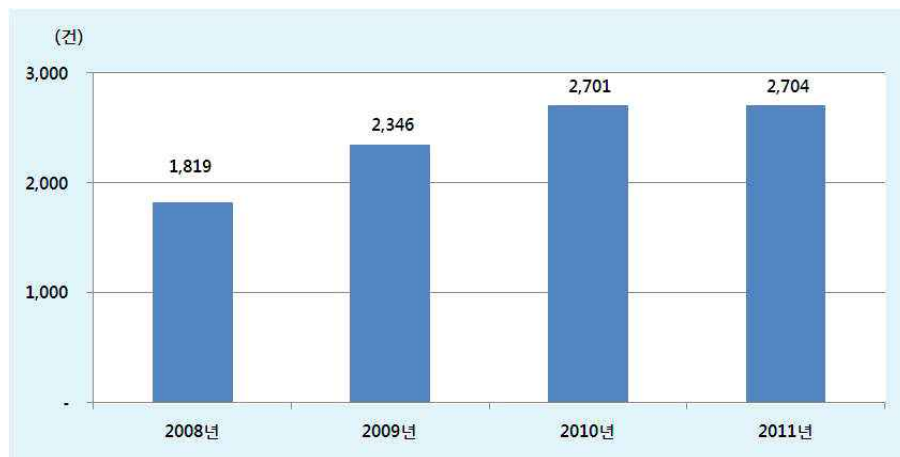


그림. 저나트륨/저염제품 출시 현황(자료: 한국보건산업진흥원, 2012)

- 국가별 저나트륨/저염 제품 출시 현황'을 살펴보면 미국, 영국, 네덜란드, 호주 순으로 활발하게 저나트륨/저염 제품을 출시하여, 저나트륨 제품 시장을 선도하고 있음

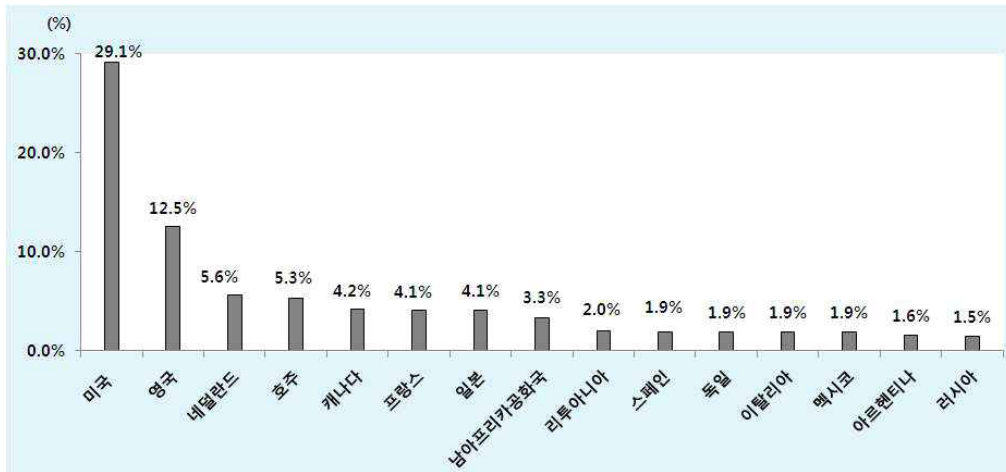


그림. 국가별 저 나트륨/저염 제품 출시 현황

- 유럽의 저나트륨 제품에 사용되는 대체소재 현황을 살펴보면, 효모추출물(46.7%)이 가장 많이 사용되고 있고, 그 다음으로는 천일염(28.4%), MSG(23.2%), 염화칼륨(15.5%)의 순으로 나타남.

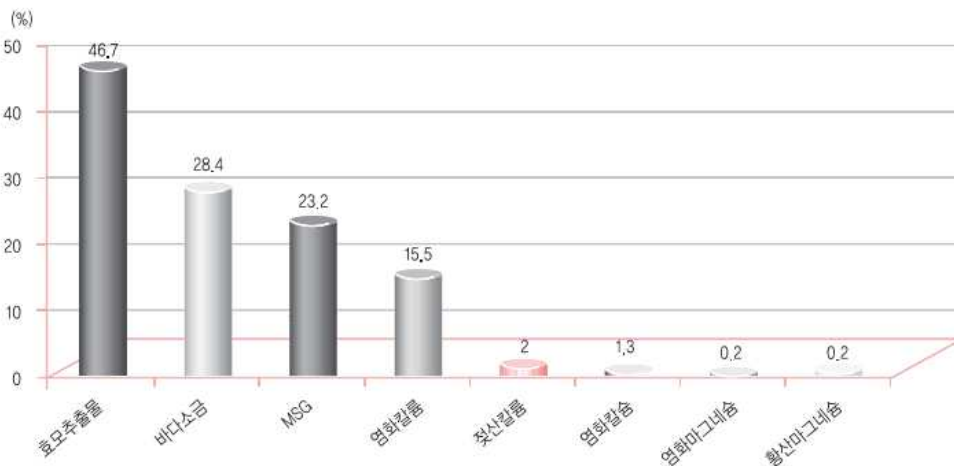


그림. 유럽의 나트륨 대체소재 현황(2008~2010년, 출처: Innova database)

- 외국의 나트륨 저감 관련 특허 사례를 보면 다음 표와 같이 첨가물을 통해 짠맛의 미각 인식에 영향을 주면서 나트륨을 저감할 수 있는 특허가 출원되고 있음을 알 수 있음. 또한 첨가물을 이용한 저나트륨 소금대체제 개발 이외에 탈염·필터링 기술을 이용한 물리적인 소금저감화 특허, 제품의 소금 흡착정도를 강화하여 저농도의 소금을 이용하는 방법 등 저나트륨화와 관련된 연구가 활발히 이루어지고 있음.(보건산업진흥원, 2012)

표. 첨가제를 이용한 나트륨 저감 소금대체제 관련 외국의 특허 사례

	특허내용	식품 예
미각 인식에 영향을 미치는 소금 대체제 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 나트륨을 줄이고, 짠맛을 더 잘 느끼도록 혼합물 사용 <ul style="list-style-type: none"> - 칼륨염 사용 - 칼슘·VitD·마그네슘 사용 - 캡사이신 첨가 	치즈, 밀가루, 소스
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 대체제 사용시 쓴맛 억제제를 함께 사용 <ul style="list-style-type: none"> - Taurine and 5'adenosincic acid, 5'-inosinic acid, 5'-guanylic acid 	모든식품
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 향미증진제 효과 강화 또는 5가지 맛에 대한 인지정도 변화 <ul style="list-style-type: none"> -N-substitued unsaturated alkyl amide 	모든식품

- 핀란드의 경우 저나트륨 소금으로서 칼륨의 함유량을 증가시켜 염화나트륨 함량을 56%로 줄인 펜솔트는 자국내 소금시장의 41%를 차지하고 미국, 영국, 독일, 일본 등 현재 20여개국에서 저나트륨염으로 판매되고 있음(그러나 과도한 칼륨 함유로 최근 FDA권고로 '신장환자는 의사상담후 섭취'라는 경고문구 게재)

제 3 장. 연구수행 내용 및 결과

제 1절 연구개발 수행 내용

코드번호	D-05
<p>1. 주요 연구개발 수행 내용</p> <p>가. 저나트륨 식물성 소금대체재 제품 생산 기술 개발</p> <ul style="list-style-type: none">(1) 통통마디 추출 기술 최적화(2) 대량 생산 공정 개발 <p>나. 염도 다양화 및 기호성 개선 기술 개발</p> <ul style="list-style-type: none">(1) 농축 및 여과법의 변화를 통한 염도 조절(2) 건조 및 입도 조절을 통한 염도 조절(3) 소금 대체재의 기호성 개선(4) 갈변 및 산화취 억제 공정 개발 <p>다. 글로벌 식품회사의 요구에 맞는 시제품 제작</p> <ul style="list-style-type: none">(1) 글로벌 식품회사와 샘플 테스트 및 업무 협력(2) 샘플테스트를 통해 개선된 맛의 소금대체재 시제품 제작 <p>라. 전임상 테스트를 통한 기능성 규명</p> <p>2. 연구방법</p> <p>가. 실험재료</p> <ul style="list-style-type: none">(1) 통통마디 통통마디는 전라남도 신안에서 재배한 통통마디를 9월에 구입하여 -24℃에서 냉동 보관하며 시료로 사용함. 냉동 보관된 통통마디는 흐르는 물에 세척하고 색이 변하거나 실험에 적합하지 않은 시료는 선별하여 분리함.(2) 활성탄 통통마디 추출물의 탈취 탈색을 위하여 (주)동양탄소사의 활성탄 4종 (석탄 활성탄 - 8x30 mesh, 야자각 활성탄 - 분말, 12x30 mesh, 8x30 mesh) 및 NORIT (U.S.A.)사의 활성탄 7종 (CGSP, KBB, CN1, DX-ULTRA, SX-PLUS, KB-EVN, SA4 PAH), 유럽탄소사의 KPP를 이용함.	

(3) 규조토

통통마디 추출물의 탈취 탈색을 위하여 EP Minerals사의 규조토 2종 (FW-60, FN-6)을 이용함.

(4) 활성백토

통통마디 추출물의 탈취 탈색을 위하여 클라이언트케미칼(주)사의 Tonsil과 대일화학사의 DA-P1을 이용함.

(5) 이온교환수지 및 합성흡착제

통통마디 추출물의 탈취 탈색을 위하여 삼양사의 이온교환수지 2종 (SCR-BH, CMP24LH)과 합성흡착제 (HP20, SP850)를 사용함.

(6) 주정

식음용 발효주정은 (주)대한 주정 라이프의 95% 제품 (20L)을 사용함.

(7) 균주 및 배지

파이토솔트 발효에는 *Corynebacterium glutamicum* 1448을 이용하였으며 seed용 배지로는 BHI(Difuco, USA)를 사하였고 배양용 배지는 최소배지(Sekine et al, 2001)를 이용하여 배양함. 배양 온도는 37℃, 180 rpm이며, 최소배지에서 메인 배양시 32℃, 180rpm으로 24시간~ 72시간 배양함.

(8) 통통마디 가수분해 효소

통통마디는 30%(w/v H₂O)의 마쇄액을 제작하여 2%(w/v) Cellulase 효소로 처리함. 50℃에서 18시간 처리하여 가수분해 후 그대로 열수추출기에서 열수추출하여 통통마디 가수분해물을 얻음. 가수분해 정도는 DNS 법으로 생성된 환원당량을 측정함.

나. 실험방법

(1) 통통마디의 열수 추출

마쇄한 통통마디는 30℃, 60℃, 100℃ 온도 조건에서 20분간 추출을 하였으며, 추출물의 상등액만을 회수하여 분석에 사용함. 또한 추출 방법에 따른 실험은 초고속 진공 저온 농축 추출기 (COSMOS660, 경서 E&P(주), 한국)를 이용하였으며, 통통마디 2.5 kg에 물 12.5 L를 넣고, 저온 감압 추출 (75℃, 8시간), 무압력 추출 (100℃, 4시간), 압력 추출 (120℃, 4시간)로 추출 방법에 달리하여 추출함.

(2) 건조 통통마디의 제조

태양건조, 송풍건조기, 열풍건조기 (60, 80℃)의 세 가지 건조방법에 따라 통통마디를 건조하였으며, 건조 시간에 따른 수분 함량의 변화를 분석함

(3) 건조 통통마디의 열수 추출

건조 통통마디의 염 추출은 약탕기 (DW-290, 대웅, 한국)와 압력추출기 (OC-7700R, 헬스쿠킹하이텍, 한국)를 이용하여 추출하함. 추출에 사용된 통통마디의 양은 10~200 g까지 통통마디의 양을 달리하여 추출하였고, 추출시간은 30~180분까지 30분 간격으로 추출하여 각 추출물의 염도 및 색도를 비교하여 최적 통통마디 투여량 및 추출시간을 정함.

(4) 통통마디 추출물의 염도 측정

염도의 측정은 염도계 (Hand refractometer S-28, ATAGO, Japan)를 이용하여 측정함.

(5) 통통마디 추출의 색도 측정

통통마디 추출액의 색도는 색차계 (CR-400, KONICA MINOLTA, Japan)를 이용하여 분석하였으며, 액체 시료는 큐벳에, 분말 시료는 플레이트에 채워 측정함.

(6) 활성탄 처리

탈취 및 탈색공정에 사용한 활성탄은 (주)동양탄소사의 활성탄 4종 (석탄 활성탄 - 8x30 mesh, 야자각 활성탄 - 분말, 12x30 mesh, 8x30 mesh) 및 NORIT (U.S.A.)사의 활성탄 7종 (CGSP, KBB, CN1, DX-ULTRA, SX-PLUS, KB-EVN, SA4 PAH), 유럽탄소사의 KPP를 사용함. 활성탄은 추출액 및 농축액의 Brix 값을 측정한 후 그 값의 2~30%의 함량 별로 넣어주었고, 40~100℃로 가온하여, 30~60분간 교반함. 통통마디 추출액 및 농축액에 쓰인 활성탄은 여과지 (filter paper)를 이용하여 제거함.

(7) 규조토 처리

규조토는 EP Minals사의 FW-60과 FN-6을 사용함. 유리필터에 규조토로 여과 층을 만든 후 통통마디 추출액을 통과시켜 규조토 층에서의 여과 정도를 비교하였음.

(8) 활성백토 처리

활성백토는 클라이언트케미칼(주)사의 Tonsil과 대일화학사의 DA-P1을 이용함. 통통마디 추출액의 탈색 및 탈취 효과를 활성탄과 비교하기 위하여 비표면적 비 (활성탄 : 활성백토 = 6 : 1)를 기준으로 통통마디 추출물 brix의 활성탄 4%를 넣고 정제한 시료와 활성백토 24%를 넣고 정제한 시료를 비교함. 활성백토 또한 통통마디 추출액에 넣은 후 40℃로 가온하여, 30분간 교반한 후 여과지 (filter paper)를 이용하여 제거하였음.

(9) 이온교환수지 및 합성흡착제 처리

이온교환수지는 삼양사의 SCR-BH (강산성 양이온교환수지, gel type)와 CMP24LH (강산산성 양이온교환수지, porous type)를 이용하였으며, 합성흡착제로는 HP20 (고다공성 Styrene계 합성흡착제, 분자량 1,000 이상 흡착)과 SP850 (분자량 1,000 이하의 작은 분자 흡착)을 이용함 이온교환수지 및 합성흡착제는 증류수에 30분 이상 담가두었다가 가라앉은 것만을 사용하였음. 컬럼에 이온교환수지 또는 합성흡착제를 1/3정도 채우고, 컬

럼 안에 물을 완전히 제거한 후 시료를 통과시킴.

(10) 응집법

통통마디 추출액을 분무 건조하여 열로 색소나 이미, 이취 성분을 응집시킨 후 이를 물에 녹여 응집된 부분은 원심분리로 제거하는 방법을 이용함.

(11) 주정처리를 이용한 탈색

통통마디 50 g을 주정에 200 mL에 넣어 정치 방법과 교반 방법의 두 가지 방법으로 3시간 간격으로 24시간까지 추출하여 처리 시료의 색도와 염도를 비교분석함.

(12) 농축

통통마디 추출액을 감압농축기 (Rotary Vacuum Evaporator N-1100, EYELA, Japan)를 이용하여 water bath (SB-1100, EYELA, Japan) 60°C의 조건에서 농축하여 사용함.

(13) 분무건조

통통마디 농축액의 건조는 분무건조기 (Spray Dryer SD-1000, EYELA, Japan)를 이용하여 분무건조 함.

(14) 통통마디 정제물의 Brix 및 염도 측정

염도의 측정은 염도계 (Hand refractometer S-28, ATAGO, Japan)를 이용한 방법과 Mohr법(식품분석 2th Ed, 2004)을 이용한 방법으로 측정하였으며, 두 가지 방법의 결과를 비교 분석함.

(15) 통통마디 정제물의 색도 측정

통통마디 추출액의 색도는 색차계 (CR-400, KONICA MINOLTA, Japan)를 이용하여 분석하였으며, 액체 시료는 큐벳에 분말 시료는 플레이트에 채워 넣어 측정함.

(16) 농축에 따른 염도 다양화

통통마디 추출액을 감압농축기(Rotary Vacuum Evapoator N-1100, EYELA, Japan)를 이용하여 water bath (SB-1100, EYELA, Japan) 60°C의 조건에서 농축함. 포화 용액은 통통마디 추출물을 농축하여 NaCl이 석출되기 직전인 상태로 제작함. 포화 2배 농축, 포화 3배 농축 용액은 포화된 용액을 처음 용액의 부피에 각각 1/2, 1/3이 되도록 계속 농축하였으며 결정화 되어 석출된 염은 여과하여 제거함.

(17) 여과에 따른 염도 다양화

통통마디 추출물을 원심분리기 (1236MG, GYROZEN, Korea)와 정밀여과 (47mm 진공여과장치, WHEATON, Korea) 및 한외여과 (Labscale TFF System, MILLPORE, U.S.A)를 사용하여 여과한 후 추출물의 염도 변화를 비교 분석함. 전처리 여과로 Whatman

No.1 (Whatma, U.S.A.) 및 N0.5와 Advantec 5A (Advantec, Japan) 및 5C 여과지를 사용함. 정밀여과로 진공여과장치 (WHEATON, Korea)를 이용하여 1.0 μ m, 0.45 μ m, 0.1 μ m (Advantec, Japan) 멤브레인 필터를 사용함. 통통마디 추출물의 최종 여과 공정으로 한외여과기 (Labscale TFF System, MILLPORE, U.S.A.)를 이용하여 0.01 μ m, 100K Dalton, 30K Dalton, 5K Daltons (cut-off fiber polysulfone membrane ultrafiltration) 멤브레인 필터를 사용함.

(18) 일반성분 측정

일반성분 성분은 식품 공전에 기재되어 있는 방법을 통해 측정함. 수분 함량은 105 $^{\circ}$ C에서 오븐건조법, 조회분 함량은 550 $^{\circ}$ C에서 회화법, 조단백 함량은 켈달법, 조지방 함량은 에테르추출법으로 측정하였음.

(19) 미네랄 측정

미네랄 함량은 이온 크로마토그래피를 통해 측정하였음.

(20) 아미노산 측정

아미노산 함량은 아미노산 전용분석기 (이온 교환 크로마토그래피)를 통해 측정함.

(21) 특성차이검사- 순위법

관능검사는 연구원 8명을 대상으로 실시하였음. 식물성소금대체제의 색상(color), 향(flavor), 짠맛(salty), 단맛(sweet taste), 쓴맛(bitter taste) 및 종합적 기호도(overall acceptance)를 각 항목으로 정하고, 색상은 가장 진한 것, 향과 맛은 가장 강한 것부터 순위(1위→3위)를 매기도록 함.

(22) 특성차이검사- 평점법

관능검사는 연구원 8명을 대상으로 식물성소금대체제의 색상(color), 향(flavor), 짠맛(salty), 단맛(sweet taste), 쓴맛(bitter taste) 및 종합적 기호도(overall acceptance)를 각 항목으로 정하고, 5점 척도법으로 실시함. 이때 색, 향, 짠맛, 단맛, 쓴맛은 강도(약함 1↔강함 5)로 평가하도록 함.

(23) 묘사분석- 정량묘사분석

관능검사는 연구원 20명을 대상으로 식물성소금대체제의 색상(color), 향(flavor), 짠맛(salty), 단맛(sweet taste), 쓴맛(bitter taste), 종합적 기호도(overall acceptance), 뒷맛(aftertaste), 감칠맛 (palatability)를 각 항목으로 정하고, 5점 척도법으로 실시하였음. 이때 색, 향, 짠맛, 단맛, 쓴맛, 뒷맛, 감칠맛의 정도(약함 1↔강함 5)를 평가하도록 함.

(24) 통통마디 가수분해물의 발효

30%(w/v) 통통마디 마쇄액을 2%(w/v) cellulase 효소를 첨가하여 50 $^{\circ}$ C에서 18시간 mile shaking하여 가수분해하였음. DNS 법으로 생성된 환원당을 측정하였으며 약 35mg/ml

농도의 환원당, 즉 3.5% 정도의 환원당이 생성됨을 확인함. 이것을 *Corynebacterium glutamicum* 1448의 최소배지로 사용함. 최소배지는 Sekine et al, 2001에서 사용한 배지 중 trace elements는 제외하고 질소원으로 urea를 사용했으며 추가의 glucose는 첨가하지 않음. Biotin은 glutamic acid 생성을 위해 첨가하여 배양함. 배양온도는 32°C에서 180rpm으로 0시간~80시간 배양하며 최적 생산 시간을 측정하였으며 약 60시간에서 감칠맛을 나타내는 glutamic acid 생성량이 최고를 나타냄. 발효물은 그대로 열수추출기로 열수추출하였으며 농축기에서 농축하여 활성탄 4% 처리로 정제하여 발효 조미액을 제작함.

(25) 통통마디 전초의 95% 주정 에탄올 추출

전남 신안군에서 9월에 수확하고 뿌리를 제외한 통통마디 전초를 흐르는 물로 세척하고 열풍건조하여 얻어진 통통마디 건조분말(*Salicornia europaea* Powder, SEP) 500g에 95% 에탄올 5L를 가하고 78±5에서 3시간동안 환류냉각 추출을 실시하였음. 추출물과 추출잔사를 실온에서 식힌후 감압 필터여과하여 추출액을 수득하고, 회수된 잔사에 95% 주정 에탄올 3L를 가하여 2차 환류 추출을 2시간 동안 동일한 방법으로 실시함.

(26) 통통마디 전초 95% 주정 추출물의 유기용매 분획

통통마디 전초 주정 추출분말(SEPE)을 2ℓ의 물에 용해시킨 후 2ℓ의 헥산을 가하고 5ℓ 부피의 분액깔대기에서 진탕 한 후 헥산층과 수층으로 2회 분획하였음. 상기 수층에 2ℓ의 클로로포름을 첨가하여 클로로포름층과 수층으로 2회 분획하고, 수층에 다시 에틸아세테이트를 첨가하고 에틸아세테이트층과 수층으로 2회 분획하고, 최종적으로 수층에 n-부탄올을 2ℓ 가하여 부탄올층과 수층으로 2회 분획하였음. 다음으로 각각의 분획층들을 감압건조하여 각 유기용매를 제거하고 동결건조시켜 각 분획물을 제작함.

(27) 통통마디 열수추출 후 잔사(박)의 알칼리 가수분해 및 에탄올 추출

통통마디 열수추출 잔사 1kg에 0.1N NaOH 4L를 가하여 블랜더로 5분가 2회 곱게 간 후, 실온에서 2시간 교반추출함. 추출물을 중화한 후 동결건조하여 얻어진 열수추출박의 알칼리 가수분해 분말에 70% 에탄올 3L를 가하여 78±5에서 3시간동안 환류냉각 추출을 실시하였음. 추출물과 추출잔사를 실온에서 식힌후 감압 필터여과하여 추출액을 수득하여 감압농축 및 동결건조로 통통마디 열수추출 잔사의 알칼리-에탄올 추출물을 제조함.

(28) 총폴리페놀(Total Polyphenol) 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Folin-Davis 방법을 수정하여 96-well microplate에서 실시함(Lee et al., 1997). 즉 각 추출 또는 정제시료 1mg을 증류수 1ml에 용해하여 10배로 희석한 100ug/ml의 시험액을 조제하였으며, 표준물질로 tannic acid(Sigma)를 농도별로 (0, 20, 40, 60, 80, 100ug/ml)로 사용함. 측정을 96-Well-microplate를 이용하여 시료액 또는 표준액 20ul에 2% sodium carbonate 250ul를 가한 후 16ul의 50% Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Folin-C, Sigma) 용액을 첨가하고 30분간 실온에서 반응시킴. 반응 후 나타나는 청색의 반응물을 725nm 흡광도를 UV-VIS microwell plate reader(Bio-RAD, x-Mark, USA) 기를 이용하여 측정하였으며, 표준물질의 표준곡선으로부터 시료내 총 폴

리페놀 함량을 계산함.

(29) 총플라보노이드(Total Flavonoid) 함량 분석

총 플라보노이드 함량은 Chung(2014)의 방법을 수정하여 96-well microplate에서 실시하였다. 다양한 농도로 증류수에 녹인 시료액 30 μ l에 90% diethylene glycol 200 μ l를 첨가하고 다시 1 N NaOH 5 μ l를 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응 후 420nm에서 흡광도를 Microreader 기(Bio-RAD, x-Mark, USA)를 이용하여 측정하였음. 표준시약으로는 0~500 μ g/ml의 rutin(Sigma Co., USA)을 사용하여 시료대신 반응시켜 얻은 검량곡선으로부터 추출시료에 함유되어 있는 총 플라보노이드 함량을 계산함.

(30) 안지오텐신 I 전환효소(angiotensin I converting enzyme) 저해활성

측정안지오텐신 전환효소에 의해 생성된 안지오텐신 II의 증가는 강한 혈압 상승작용과 항이노 호르몬인 알도스테론의 분비를 촉진하고 물과 나트륨의 배설을 억제하여 순환 혈액량을 증가시킴으로써 고혈압을 일으킨다. 따라서 안지오텐신 전환효소에 대한 저해활성을 확인하고자 다음과 같이 ACE(안지오텐신 전환효소, Angiotensin I Converting Enzyme) 저해활성을 측정하였음. 시료 50 μ l에 Rabbit lung aceone powder(Sigma Col) 1g을 10ml의 0.3M NaCl를 함유하는 0.1M 붕산염 소듐 버퍼(sodium borate buffer) 용액에 용해한 ACE 상등액 25 μ l(2.5 unit)와 0.3M NaCl를 함유하는 0.1M sodium borate buffer(pH 8.3) 50 μ l, 다양한 농도(0.25, 0.5 및 1.0mg/ml)의 시료 용액 25 μ l을 혼합하여 37 $^{\circ}$ C 온도 하에서 10분간 프리인큐베이션(preincubation)시켰음. 여기에 기질로서 Hip-His-Leu 용액 50 μ l를 가한 후, 다시 37 $^{\circ}$ C 온도 하에서 30분간 반응시킨 후, 1N 염산(HCl) 100 μ l를 가하여 반응을 정지시키고, 에틸 아세테이트(ethyl acetate) 1ml를 가하여 1분간 볼텍싱(vortexing)한 다음, 3,000g로 15분간 원심분리 후, 분리된 에틸아세테이트 상층액(추출물) 0.8ml를 취하였음. 이 상층액을 후드 내에서 가운시켜며 완전히 휘발시킨 뒤, 동일조건의 붕산염 소듐 버퍼(sodium borate buffer) 1ml를 가하여 용해시키고, 228nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해활성을 계산함.

(31) 항산화활성 측정

항산화 활성은 블로이스의 방법(Abe *et al.*, 2000)을 일부 수정하여 1,1-디페닐-2-피크릴 하이드라질(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl, DPPH, Sigma Co., USA)을 이용하여 측정함. DPPH 5mg을 에탄올 50ml에 녹여 DPPH 용액을 만든 후 96-well microplate에 180 μ l를 가하고 시료를 0~100 μ g/ml의 농도로 첨가하고, 5초 동안 혼합한 후 30분 동안 실온에서 반응시키고, 517nm에서 시료를 가하지 않은 대조군에 대한 흡광도 감소를 유리 라디칼소거 활성(%)으로 나타내었음.

(32) 항응고활성(anti-coagulant activity) 측정

통통마디 추출물 또는 발효물의 추출물 또는 유기용매 분획시료의 항혈전 활성 평가의 일환으로 혈액응고 저해활성을 평가하되, 내인성 경로 및 외인성 경로의 응고과정을 이용하여 기존에 보고된 방법에 준해 평가하였으며(Kim *et al.*, 2012, Ku, *et. al.*, 2013), 프

로트롬빈 타임과 에이피티티 타임을 측정함. 혈장은 시판 control plasma (MD Pacific Technology Co., Ltd, Huayuan Industrial Area, China)을 시험의 검정을 위하여 사용하 되, 대부분의 측정에서는 건강한 성인의 혈장을 구하여, -80℃에 분주시료로 보관하면서 실험에 이용함.

(33) 프로트롬빈타임(Prothrombin Time, PT)

건강한 성인의 혈장 30 µl와 다양한 농도의 시료액 5 µl를 Coagulation analyzer(Genus CA 51-52 semiauto coagulometer, Shenzhen China)의 튜브에 첨가하여 37℃에서 3분간 가온 후, 40의 PT reagent(Diagon PT, Hungary) 를 첨가하고 혈장이 응고될 때까지의 시간을 3회 반복한 실험의 평균치로 나타내었음. 대조로는 아스피린(Sigma Co., USA)을 사용하였으며, 용매 대조구로는 시료 대신 DMSO를 사용함. DMSO의 경우 17-18초의 응고시간을 나타냄. 프로트롬빈 저해활성은 시료 첨가시의 응고시간을 용매 대조구의 응고시간으로 나눈 값으로 나타냄.

(34) 에이피타임(activated Partial Prothromin Time, aPTT)

건강한 성인 혈장 30µl와 다양한 농도의 시료 추출액 5 µl를 Coagulation analyzer(Genus CA 51-52 semiauto coagulometer, Shenzhen China)의 튜브에 첨가하여 37℃에서 3분간 가온한 후, 20 µl의 aPTT reagent(Diagon APTT, Hungary)를 첨가하고 다시 37℃에서 3분간 배양하였음. 이후 50 µl CaCl₂(35 mM)을 첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였다. 용매 대조구로는 시료 대신 DMSO를 사용하였으며, 이 경우 50-55초의 응고시간을 나타내었다. aPTT의 결과는 3회 반복한 실험의 평균치로 나타내었으며, 혈액 응고인자 저해활성은 시료 첨가시의 aPTT시간을 용매 대조구의 aPTT시간으로 나눈 값으로 계산함.

3. 추진전략 및 방법

가. 기술정보 수집

- 국회도서관, 서울대 도서관, KISTI 등 국내 도서관 망을 통하여 국내외 논문 및 학술 발표 자료 수집
- 국내외 특허 정보는 KIPRIS 특허정보넷을 통한 검색으로 수집하고 필요 시 특허 정보 전문 기관에 의뢰하여 수집

나. 전문가 확보

- 연구 책임자가 제안 기술 관련 개발 경력 7년의 연구 경력과 우리나라, 미국, 유럽, 일본 등지에 통통마디에서 소금 대체재를 생성하는 물질특허를 등록한 전문가이므로 연구책임자를 중심으로 파이토코퍼레이션 부설 연구소 소속 식품전문 연구원이 참여하여 연구를 수행
- 염생식물의 가공 기술 및 공정 개선 분야는 aT 한국농수산식품유통공사에서 제공하는 현장코칭 전문가 활용

- 기술 및 경영 자문을 위한 국내 최고 수준의 식품공학, 식품가공, 안전성분석, 기술경영, 함초 재배, 식품 수출, 유통 전문가로 구성된 자문위원회 구성 운영

다. 통통마디 원료 확보

- 원활한 연구 개발을 위한 통통마디 원료를 안정적으로 확보하기 위하여 통통마디 재배 전문 기업과 공급 계약 수립 및 원료 확보

라. 국가연구시설장비진흥센터 및 서울대 유전공학연구소 장비 공동 이용

- 연구비의 절감과 효율적인 실험 수행을 위해 국가연구시설장비진흥센터 및 서울대 유전공학연구소가 보유하고 있는 고가의 실험 장비 공동 활용 적극 추진

마. 과제의 관리, 기술 및 경영자문은 한국산업진흥기술협회, 한국식품기술사협회, 벤처기업협회 전문가를 활용

바. 해외 수출 제품 개발을 위한 샘플테스트 및 기호 조사는 먼저 업무협력의향서를 체결한 유럽의 글로벌 업체와 협력을 통하여 추진하고, 점진적으로 식물성 저나트륨 소금 대체재 샘플 테스트에 관심이 많은 대형 식품업체들로 확대함. 이 경우 본 주관기관은 샘플을 생산하여 제공하고 글로벌 식품업체의 연구소와 함께 샘플테스트 수행 및 선호하는 맛의 식물성소금대체재 개발 협력

사. 추진 방법 및 계획

연도	세부연구목표	월 단위 추진계획											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 차 년 도	염화나트륨 함량 줄인 저나트륨 식물성소금대체재 기술개발	■	■	■	■	■							
	통통마디의 추출, 정제공정 최적화를 통한 소재화기술개발	■	■	■	■	■	■						
	식물성소금대체재의 염도 다양화				■	■	■	■	■	■	■		
	식물성소금대체재의 건강기능성 테스트를 위한 동물실험						■	■	■	■	■	■	■
2 차 년 도	물성 개선 및 제형 다양화	■	■	■	■	■	■	■					
	건조공정 최적화 및 입도 제어	■	■	■	■	■	■	■					
	산화에 의한 갈변 및 산화취 억제	■	■	■	■	■	■	■					
	식물성소금대체재의 대량생산을 위한 공정 개발							■	■	■	■	■	■
	관능평가를 통한 기호성 개선	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	글로벌 식품회사가 주문하는 맛 (Customized Flavor) 개발							■	■	■	■	■	■
	생리활성 물질 추출	■	■	■	■	■	■	■	■	■			
	전임상 동물실험								■	■	■	■	■

제 2절 연구개발 수행 결과

코드번호

D-05

1. 저나트륨 식물성 소금대체제 제조기술 개발

○ 통통마디로부터 염화나트륨 30~50% 줄인 저나트륨 식물성 소금대체제를 개발을 목적으로 실험을 진행함. 나트륨의 함량을 감소시키기 위한 방법으로 미네랄과 유기물의 함량 비율 조절 및 나트륨(Na)과 칼륨(K) 용해도를 활용한 방법들을 모색함.

가. 여과 방법에 따른 저나트륨 식물성 소금대체제 제조기술 개발

○ 통통마디 추출액에 함유되어 있는 유기 성분을 여과하여 제거함으로써 미네랄과 유기물의 함량 비율을 조절할 수 있음. 통통마디 추출물은 여과하기 전 원심분리(1236MG, GYROZEN, Korea)하여 고형분을 제거함. 여과 방법으로는 정밀 여과(47mm 진공여과장치, WHEATON, Korea), 한외 여과(Labscale TFF System, Milliore, U.S.A) 방법을 활용하였으며, 다양한 Pore Size 여과 필터를 사용하여 유기물의 입자 크기에 따른 제거율을 조절함.

○ 전처리 여과로 Whatman No.1 (Whatma, U.S.A.) 및 N0.5와 Advantec 5A (Advantec, Japan) 및 5C 여과지를 사용함. 정밀여과로 진공여과장치 (WHEATON, Korea)를 이용하여 1.0 μ m, 0.45 μ m, 0.1 μ m(Advantec, Japan) 멤브레인 필터를 사용함. 통통마디 추출물의 최종 여과 공정으로 한외여과기 (Labscale TFF System, Millipore, U.S.A.)를 이용하여 0.01 μ m, 100K Dalton, 30K Dalton, 5K Daltons (cut-off fiber polysulfone membrane ultrafiltration) 멤브레인 필터를 사용 여과한 후 추출물의 염도 변화를 비교 분석함.

○ 실험 결과, 통통마디 추출액을 여과하지 않고 건조한 결과 염도가 57.85%로 가장 낮았으며, 정밀여과한 결과 1.0 μ m 멤브레인 60.8%, 0.45 μ m 멤브레인 65.6%, 0.1 μ m 멤브레인 70.6%, 한외여과한 결과 1,000,000 dalton 멤브레인 72.8%, 300,000 dalton 멤브레인 75.7%, 5,000 dalton 멤브레인 87.3%로 여과가 많이 될수록 염도가 증가함을 확인함.

○ 여과 필터의 pore size가 감소할수록 저분자의 유기물을 제거가 가능해지고, 이로 인해 염도가 증가하는 것으로 판단함. 여과 필터의 pore size를 조절함으로써 미네랄과 유기물의 함량 비율을 조절하여 저나트륨 식물성 소금대체제를 제조하는 기술을 개발함.

나. 정제 방법에 따른 저나트륨 식물성 소금대체제 제조기술 개발

○ 정제 과정에서 사용되는 활성탄, 규조토 등의 여과제는 비선택적으로 유기물들을 제거하는데 특히 활성탄의 경우 탈색 및 이미 이취 제거에 활용도가 높으며, 이는 활성성탄이 유기물을 제거하는데 효과가 있기 때문임. 본 연구에서는 정제 방법으로 활성탄을

활용하였으며, 활성탄의 첨가량에 따른 미네랄의 함량 비율 조절에 의한 저나트륨 식물성 소금대체제 제조기술 개발하고자 함.

- 활성탄의 첨가량은 통통마디 추출물의 brix를 측정 한 후 그에 대비 2~30%정도를 첨가하였고, 30분간 가온하여 반응하여 정제가 끝난 후 활성탄은 여과지를 통해 제거함
- 활성탄 정제 후 염도를 측정한 결과, Brix 기준 활성탄 2%에서 염도 62%, 활성탄 4%에서 염도 64%, 활성탄 6%에서 염도 65%, 활성탄 20%에서 염도 68%, 활성탄 30%에서 염도 69%로 활성탄의 양이 증가할수록 염도가 증가한 것을 확인할 수 있음.
- 이 결과를 통해 활성탄을 많이 첨가할수록 활성탄에 흡착되어 제거되는 유기물의 양이 증가되어 염도가 높아진 것으로 판단됨. 활성탄 첨가량을 조절함으로써 미네랄과 유기물의 함량 비율을 조절하여 저나트륨 식물성 소금대체제를 제조하는 기술을 확보함.

다. 무기염의 용해도 차이에 따른 저나트륨 식물성 소금대체제 제조기술 개발

- 온도에 따른 무기염의 용해도 차이를 활용하여 염화나트륨을 석출시켜 제거할 수 있음. 이와 같은 방법을 이용하여 저나트륨 식물성 소금대체제를 제조하고자 함.
- 통통마디 추출액을 감압농축기(Rotary Vacuum Evapoator N-1100, EYELA, Japan)로 water bath (SB-1100, EYELA, Japan) 60℃ 조건에서 농축하고 이를 통해 염화나트륨의 용해도가 포화상태가 되어 그 이상 농축이 되면 염화나트륨이 결정이 되어 석출되게 됨. 석출된 결정은 여과지를 이용하여 제거함.
- 염화나트륨이 석출되기 직전 상태인 포화 상태를 기준으로 농축액을 2배, 3배 더 농축한 후 분무 건조함. 그 결과 포화 농축하였을 때의 염도는 65%, 2배 농축 52%, 3배 농축 47%로 농축을 많이 할수록 염도가 감소하는 것을 확인할 수 있었음.
- 이와 같은 실험 결과는 농축 과정을 통해 염화나트륨을 석출시켜 제거할 수 있음을 보여줌. 또한 염화나트륨을 제거함으로써 KCl과 같은 다른 무기염 및 유기물의 함량을 증가시킨 저나트륨 식물성 소금대체제를 제조하는 기술을 개발함.

2. 통통마디의 추출 기술 최적화

가. 추출 방법에 따른 조건

- 냉동 보관한 통통마디를 추출하기 위해 열수추출 방법을 택하였으며, 초고속 진공 저온 농축 추출기를 이용하여 추출 시간 및 추출 방법에 따른 추출효율을 비교함. 추출기

의 조작 방법에 따라 저온 감압 추출 (75℃, 8시간), 무압력 추출 (100℃, 4시간), 압력 추출 (120℃, 4시간) 방식으로 통통마디 2.5 kg에 물 12.5 L를 넣고 추출 하였음.

- 저온 감압 추출물은 통통마디의 향이 거의 없으며, 무압력 추출물은 색상이 가장 밝고, 향도 나쁘지 않음. 압력 추출물은 색상이 가장 진하였으며, 냄새 또한 가장 강하고, 특 쏘는 향이 남.
- 저온 감압 추출, 무압력 추출, 압력 추출 방법으로 추출한 통통마디 추출액의 염도를 염도계를 이용하여 측정함. 무압력 추출을 하였을 때 추출액의 염도가 0.81%였으며, 2.5 kg 통통마디에서 회수 가능한 소금 양이 98.82 g, 소금 회수율이 3.95%로 추출 방법들 중 가장 높음.
- 실험 결과, 무압력 추출을 하였을 때 소금 회수율이 가장 높고, 색이나 향 등의 관능적인 면에서도 우수함을 확인하였으며 이후 추출 기술 최적화에 활용함.

표 2-1. 통통마디의 열수 추출에 따른 소금 회수율

	추출액 용량 (L)	염도 (%)	회수 가능한 소금 양 (g)	소금 회수율 (%)
저온 감압 추출	12.2	0.74	92.72	3.71
무압력 추출	12.2	0.81	98.82	3.95
압력 추출	13.0	0.71	92.30	3.69

나. 건조 통통마디의 열수 추출

(1) 통통마디의 조건별 건조곡선 분석

- 태양건조, 송풍건조기, 열풍건조기 (60, 80℃)의 세 가지 방법에 따라 통통마디를 건조 하였으며, 건조시간에 따른 수분함량의 변화를 분석함. 태양건조 및 송풍건조는 8일 경과 후 수분함량이 각각 4.3%, 3.1%으로 감소하는 것을 확인함.
- 열풍건조의 경우, 초기 수분함량의 오차가 크게 나타나는 것은 열풍건조기 안의 위치에 따른 차이로 판단되며, 건조 완료 전까지는 오차범위가 크게 줄어들어 거의 동일하게 되었음. 60℃에서 열풍 건조한 시료는 12시간 경과 후 수분함량이 6.0%를 보이고, 24시간 경과 후에는 수분함량이 1.4%로 건조가 완료된 것으로 판단함.
- 80℃에서 7시간 처리 후 수분함량이 0.6%를 나타내어 건조가 완료됨.
- 통통마디의 건조방법으로는 80℃에서 열풍 건조하는 것이 시간적인 면에서 가장 효율적인 방법으로 판단됨.

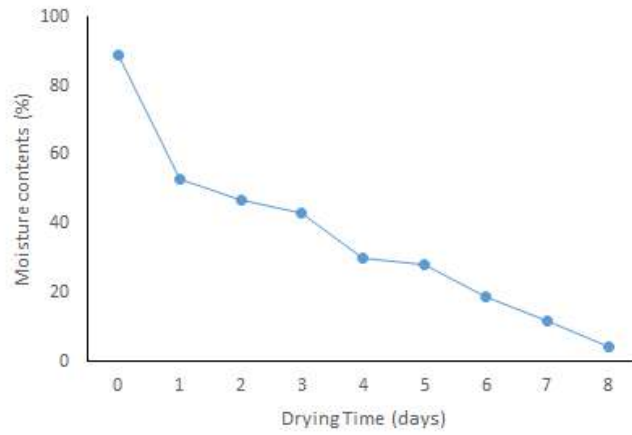


그림 2-1. 태양건조를 이용한 통통마디의 건조시간에 따른 수분함량

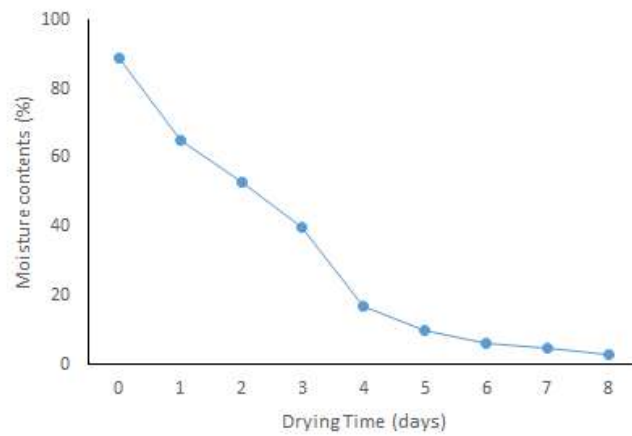


그림 2-2. 송풍건조기(상온)를 이용한 통통마디의 건조시간에 따른 수분함량

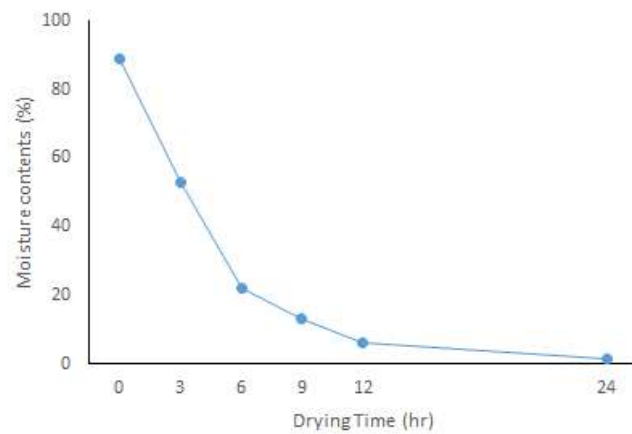


그림 2-3. 열풍건조기(60°C)를 이용한 통통마디의 건조시간에 따른 수분함량

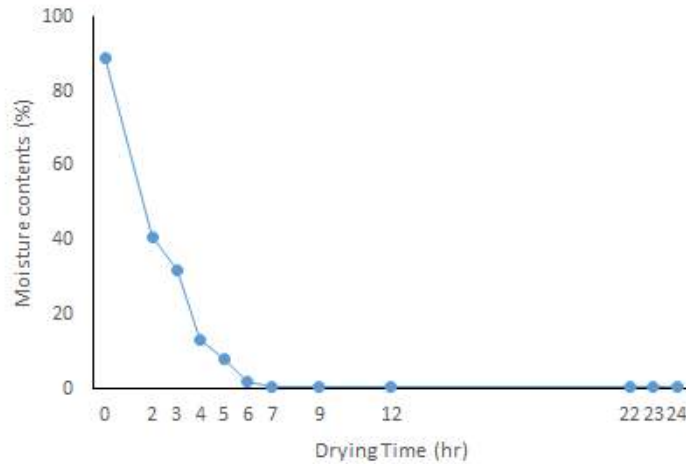


그림 2-4. 열풍건조기(80℃)를 이용한 통통마디의 건조시간에 따른 수분함량



그림 2-5. 생 통통마디와 건조 통통마디 사진

(2) 건조 통통마디의 열수 추출

- 건조 통통마디의 염을 추출하기 위해 열수 추출 방법을 택하였으며, 약탕기와 압력추출기를 이용하여 추출 시간 및 추출 방법에 따른 추출효율을 비교함.
- 약탕기 및 압력추출기를 이용한 통통마디 추출물의 색도를 색차계를 이용하여 측정함. 추출 시간이 증가함에 따라 L값(밝기)과 b값(-파란색~노란색+)은 낮아지고, a값(-녹색~적색+)은 높아짐. 약탕기의 경우는 시간이 증가함에 따라 색의 변화가 계속 진행되었으나, 압력추출기의 경우에는 추출시간 90분 후에는 큰 변화를 나타내지 않음

표 2-2. 약탕기 및 압력추출기를 이용한 통통마디 추출물의 색도

추출시간 (min)	압력추출기			약탕기		
	L	a	b	L	a	b
30	31.52 ± 0.00	-0.23 ± 0.01	5.28 ± 0.01	31.83 ± 0.00	-0.34 ± 0.00	4.78 ± 0.01
60	29.35 ± 0.00	1.22 ± 0.00	6.68 ± 0.00	28.37 ± 0.00	1.72 ± 0.00	6.11 ± 0.00
90	27.88 ± 0.00	2.06 ± 0.02	5.69 ± 0.01	27.90 ± 0.00	2.04 ± 0.00	5.79 ± 0.00
120	27.54 ± 0.00	2.26 ± 0.00	5.42 ± 0.01	26.33 ± 0.00	2.58 ± 0.01	3.93 ± 0.00
180	26.24 ± 0.00	2.40 ± 0.01	3.77 ± 0.01	23.99 ± 0.00	1.50 ± 0.01	0.55 ± 0.02

○ 건조 통통마디 50 g을 증류수 1 L에 넣어 추출 시간에 따른 염도를 분석함. 추출 시간이 증가함에 따라 염도의 수치가 증가하였으며, 일정시간이 지난 후에는 염도가 일정하게 유지되는 경향을 나타냄. 시간이 증가함에 따라 염도의 수치가 증가하는 추세를 나타내었으며, 추출 시간 60분에서 추출이 완료된 것으로 판단된다. 총 염에서 보다 높은 염 추출을 보이는 압력추출기를 이용하는 것이 옳은 것으로 판단됨.

표 2-3. 건조 통통마디의 추출시간에 따른 염도분석

추출시간 (min)	압력추출기			약탕기		
	염도 (%)	추출액(ml)	총염 (g)	염도 (%)	추출액(ml)	총염 (g)
20	1.11	890	9.90	0.89	900	7.99
40	1.46	800	11.68	1.50	730	11.00
60	1.51	780	11.78	1.78	650	11.57
80	1.50	755	11.33	2.10	490	10.30
100	1.50	740	11.10	2.19	450	9.85

○ 건조 통통마디 25, 50, 100, 150, 200 g을 증류수 1 L에 넣어 60분간 추출 후 추출수율을 비교함. 건조 통통마디의 g별 총 염은 첨가함에 따라 염도와 총 염이 증가함. 건조 통통마디 100 g까지 첨가량에 비례하여 증가하는 경향을 보였지만 100 g 이상은 첨가량에 비해 총 염의 증가는 크지 않음. 추출 수율을 계산한 결과, 건조 통통마디의 양이 25 g으로 가장 적었을 때 26.52%로 염 추출 수율이 가장 높음을 확인하여 이후 추출공정 최적화에 활용함.

표 2-4. 건조 통통마디의 함량에 따른 염도 분석

건조 통통마디 양 (g)	압력추출기			
	염도 (%)	추출액 (ml)	총염 (g)	수율 (%)
25	0.78	850	6.63	26.52
50	1.51	745	11.24	22.48
100	2.94	680	19.99	19.99
150	3.93	570	22.43	14.95
200	5.39	440	23.75	11.88

다. 활성탄 처리를 통한 통통마디 추출물의 탈취 및 탈색

- 활성탄은 대부분의 구성 물질이 탄소질로 된 물질로, 표면적이 넓어 흡착성이 강하고, 탈색제로 주로 사용됨. 통통마디 추출물의 탈색 및 탈취를 목적으로 여러 종류의 활성탄을 사용하여 비교 분석함.

(1) 활성탄 원료 (식물계 vs 석탄계)에 따른 탈색 탈취

- 활성탄 원료에 따른 탈색 및 탈취 효과를 비교하고자 식물계인 야자각 활성탄과 석탄계인 석탄 활성탄을 사용함. 두 활성탄의 형상은 입상이었으며, 입자의 크기 또한 8x30 mesh로 동일함.
- 활성탄 정제하기 전 통통마디 농축액은 17.8 brix, 염도 11.2%임. 두 활성탄 모두 각각 활성탄 정제를 한 후 brix는 비슷하였고, 염도는 조금씩 감소하였으나 이는 활성탄 제거 과정 중 기구를 세척하면서 물이 조금씩 혼입된 것으로 판단됨. 식물계 및 석탄계 모두 활성탄 정제에 의한 brix 및 염도의 변화는 없는 것으로 확인됨.

표 2-5. 활성탄 처리 후 용액의 brix와 염도(%)

	Brix	염도 (%)
야자각 8x30	17.7	10.7
석탄 8x30	17.8	10.8

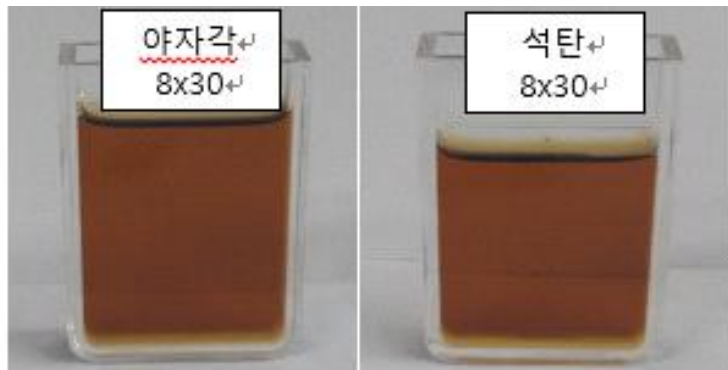


그림 2-6. 활성탄 종류에 따른 추출물의 색 차이

- 야자각 활성탄과 석탄 활성탄을 각각 처리한 통통마디 농축액의 색을 비교하고자 색차계를 이용함. 그 결과 L값, a값, b값 모두 유의적 차이가 없었음. 이 결과를 통해 두 활성탄의 탈색 효과에는 차이가 없는 것으로 판단됨.

표 2-6. 활성탄 처리 후 용액의 색도 측정

	L	a	b
야자각 8x30	21.04 ± 0.02	8.55 ± 0.02	4.78 ± 0.01
석탄 8x30	21.06 ± 0.01	8.66 ± 0.01	4.88 ± 0.01

(2) 활성탄 형상 (분말vs 입상)에 따른 탈색 탈취

- 활성탄 형상에 따른 탈색 및 탈취 효과를 비교하고자 분말 활성탄과 석탄계인 입상 활성탄을 사용함. 두 활성탄의 원료는 식물계인 야자각으로 동일하였으며, 입상 활성탄의 입자 크기는 12x30 mesh, 분말 활성탄은 -200 mesh 임.
- 활성탄 정제 전 통통마디 농축액은 17.8 brix, 염도 11.2%이며 두 활성탄 모두 각각 활성탄 정제를 한 후 brix는 거의 차이가 없었고, 염도는 조금씩 감소함. 이는 앞선 실험에서와 동일하게 활성탄 제거 과정 중 기구를 세척하면서 물이 조금씩 혼입된 것으로 생각되며, 활성탄 정제에 의한 brix 및 염도의 변화는 없는 것으로 판단됨.

표 2-7. 활성탄 처리 후 용액의 Brix와 염도(%)

	Brix	염도(%)
야자각 분말	17.8	10.8
야자각 12x30	17.7	10.7

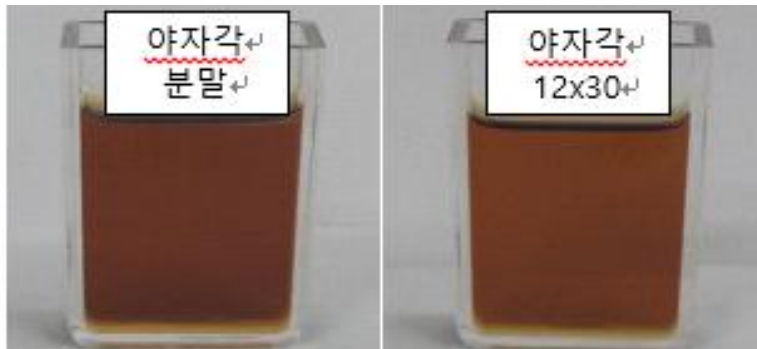


그림 2-7. 활성탄 종류에 따른 추출물의 색 차이

- 야자각 분말 활성탄과 입상 활성탄을 각각 처리한 통통마디 농축액의 색을 색차계를 이용하여 비교함. 그 결과 분말 활성탄의 L값이 19.39로 입상 활성탄의 21.03보다 낮아 밝기는 감소하였지만, 적색의 a값은 5.93, 황색의 b값은 2.99로 입상 활성탄의 a값 8.65, b값 4.89 보다 낮아 적색과 황색은 모두 감소하였음. 이 결과를 통해 야자각 분말 활성탄이 입상 활성탄 보다 색소 성분을 제거하는데 효과적인 것으로 사료됨.

표 2-8. 활성탄 처리 후 용액의 색도 측정

	L	a	b
야자각 분말	19.39± 0.01	5.93 ± 0.03	2.99 ± 0.01
야자각 12x30	21.03 ± 0.03	8.65 ± 0.05	4.89 ± 0.02

(3) 활성탄 종류에 따른 탈색 탈취

- 농축액의 brix (15.6 brix)와 비교했을 때 활성탄 처리 후 용액의 brix가 모든 활성탄 그룹에서 감소한 것을 확인하였음. 하지만 활성탄 종류에 따른 변화는 거의 없는 것으로 나타남.

표 2-9. 활성탄 종류에 따른 Brix 값

	CGSP	KBB	CN1	DX-ULTRA	SX-PLUS
Brix	13.2	13.2	13.1	13.1	13.1

- 여러 종류의 활성탄으로 처리한 결과, 서로 유사한 값이 나왔지만 KBB 활성탄이 육안으로 약간 더 밝게 보이고, 색도 측정 결과에서도 L값 21.40으로 가장 높게 나와 가장 밝은 것으로 평가됨. 가장 어둡게 측정된 것은 CN1와 DX-ULTRA 활성탄을 처리한 것으로 L값이 18.90으로 나타남. 하지만 색도 값의 차이가 크지 않고 KBB 활성탄을 제외하고 육안으로도 명확한 차이가 없는 것으로 보아 활성탄 종류에 따른 색의 변화는 거의 없는 것으로 판단됨.

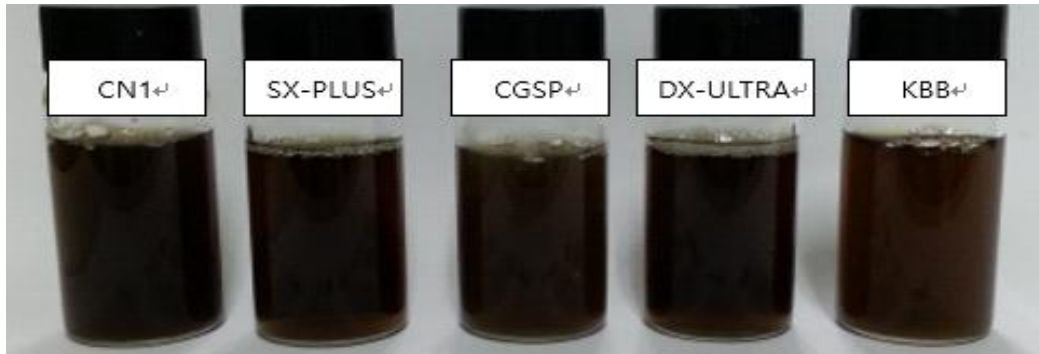


그림 2-8. 활성탄 종류에 따른 추출물의 색 차이

표 2-10. 활성탄 처리 후 용액의 색도 측정

	L	a	b
CGSP	19.63 ± 0.04	3.48 ± 0.04	3.14 ± 0.03
KBB	21.04 ± 0.03	5.15 ± 0.05	4.90 ± 0.03
CN1	18.90 ± 0.02	2.38 ± 0.03	2.06 ± 0.02
DX-ULTRA	18.90 ± 0.01	2.65 ± 0.03	2.10 ± 0.02
SX-PLUS	19.40 ± 0.02	3.57 ± 0.01	2.75 ± 0.04

- 통통마디 추출물을 분말화하여 측정된 결과, 추출물일 때와 동일하게 KBB 활성탄을 처리했을 때 L값이 78.12로 가장 밝게 측정됨. 나머지 활성탄 처리그룹도 이전 결과와 약간의 차이가 있었지만 유사한 것으로 확인됨.

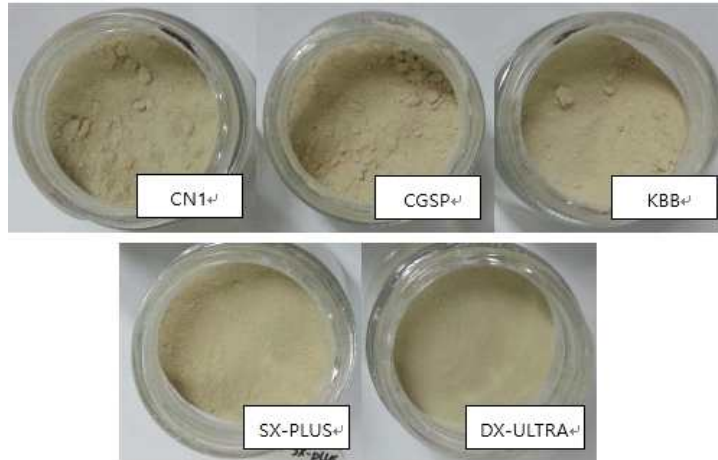


그림 2-9. 활성탄 종류에 따른 분말의 색 차이

표 2-11. 분무건조 후 분말의 색도 측정

	L	a	b
CGSP	76.89 ± 0.01	0.12 ± 0.00	12.50 ± 0.00
KBB	78.12 ± 0.01	0.10 ± 0.01	12.29 ± 0.00
CN1	75.76 ± 0.00	-0.01 ± 0.01	11.29 ± 0.00
DX-ULTRA	76.71 ± 0.01	-0.15 ± 0.01	12.17 ± 0.01
SX-PLUS	76.03 ± 0.02	0.08 ± 0.01	13.28 ± 0.01

- KPP를 통통마디 농축액 brix의 4%에 해당하는 양을 넣고 탈색 및 탈취 효과를 확인함. 활성탄 처리 전 농축액의 염도는 11.2%, 17.8 brix였으며, 활성탄 정제 후 염도는 11.2%, 17.6 brix로 활성탄 정제로 인한 염 손실은 없는 것으로 판단됨.
- 그러나 활성탄 정제 후 육안으로 구별될 정도로 활성탄 정제 후 색이 더 어두워졌으며, 색차계 측정 결과 L값이 21.40에서 18.75로 증가하여 KPP로는 탈색에 효과를 얻을 수 없었음.



그림 2-10. 활성탄 처리에 따른 용액의 색 변화

표 2-12. 활성탄 처리 후 용액의 색도 변화

	L	a	b
대조군	21.40 ± 0.02	8.82 ± 0.03	5.23 ± 0.01
KPP	18.75 ± 0.03	3.77 ± 0.04	2.12 ± 0.03

○ 활성탄 종류에 따른 통통마디 추출액의 탈색 효과를 비교한 결과 정제 후 액체나 분말상 모두 KBB 활성탄을 처리한 시료의 L값이 가장 높게 측정되어 탈색에는 KBB 활성탄이 가장 효과가 있는 것으로 생각되나 그 값이 KPP를 제외한 다른 활성탄과의 큰 차이를 보이지는 않음.

(4) 활성탄 첨가량에 따른 탈색 탈취

○ 통통마디 농축액에 처리한 활성탄의 양이 증가할수록 활성탄 정제액의 L값이 증가하여 활성탄 정제를 하지 않은 대조군의 L값은 20.71이었으나 Brix 기준 활성탄 6%를 처리한 정제액은 L값이 23.95로 증가함.

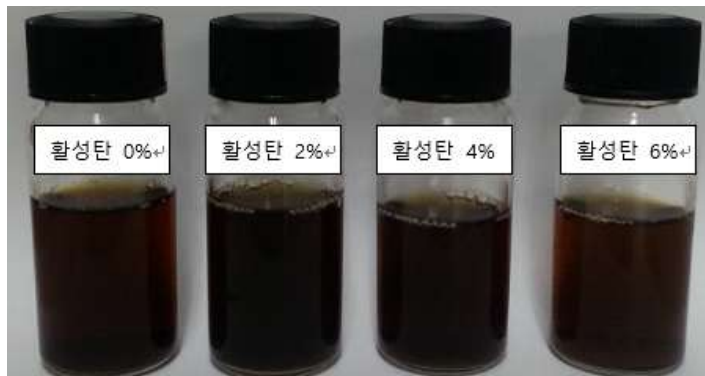


그림 2-11. 활성탄 양에 따른 용액의 색 차이

표 2-13. 활성탄 첨가량에 따른 용액의 색도

	L	a	b
Brix 기준 0%	20.71 ± 0.03	6.91 ± 0.08	4.41 ± 0.02
Brix 기준 2%	20.17 ± 0.02	6.46 ± 0.01	4.61 ± 0.02
Brix 기준 4%	22.04 ± 0.01	7.02 ± 0.05	6.01 ± 0.02
Brix 기준 6%	23.95 ± 0.07	7.15 ± 0.09	7.81 ± 0.10

○ 통통마디 농축액의 경우 특유의 쓴맛이나 탄 맛, 탄 냄새 등의 이미 및 이취 등이 있는데, 활성탄 정제 후 이미 및 이취 등이 제거됨. 그러나 활성탄의 양이 증가할수록 이미 뿐만 아니라 통통마디 농축액의 감칠맛까지 감소됨을 실험 결과를 통해 알 수 있음.

표 2-14. 활성탄 첨가량에 따른 용액의 관능평가

활성탄 제거 후 용액	
Brix 기준 2%	원액보다 색상이 어둡고, 끝 맛이 약간 쓴
Brix 기준 4%	감칠맛이 좀 더 줄어들고, 단맛, 단향이 남
Brix 기준 6%	색이 가장 밝고, 감칠맛보다 단맛이 강함

○ 통통마디 농축액과 마찬가지로 활성탄의 첨가량이 증가할수록 분무 건조한 분말의 색이 밝아짐. 특히 활성탄의 양이 brix 기준 활성탄 20% 이상이 되자 육안으로도 구분이 될 정도로 분말의 색이 하얗게 밝아졌음. 색도 측정 결과 brix 기준 활성탄 2% 정제한 분말의 L값은 77.91이었으나, brix 기준 활성탄 30% 정제한 분말의 L값은 92.51로 그 차이가 확인하였음.



그림 2-12. 활성탄 첨가량에 따른 분말의 색 차이

표 2-15. 활성탄 첨가량에 따른 분말의 색도

	L	a	b
Brix 기준 2%	77.91 ± 0.01	0.06 ± 0.00	14.23 ± 0.01
Brix 기준 4%	79.15 ± 0.01	0.00 ± 0.01	13.17 ± 0.01
Brix 기준 6%	80.13 ± 0.00	-0.13 ± 0.01	12.50 ± 0.01
Brix 기준 20%	90.45 ± 0.00	-0.28 ± 0.01	5.14 ± 0.01
Brix 기준 30%	92.51 ± 0.01	-0.25 ± 0.01	3.13 ± 0.00

- 관능평가 결과 활성탄 정제를 통해 분말의 잡맛이나 이취가 제거되어짐을 알 수 있음. 그러나 활성탄의 양이 증가할수록 이미 및 이취뿐만 아니라 감칠맛 또한 제거됨. 활성탄의 양을 조절하여 수용자의 기호에 따른 맛 조절이 가능한 것으로 사료됨. 감칠맛을 원할 경우 brix 기준 활성탄 4%로 정제를 하는 것이 적절할 것으로 판단되며, 반면 밝은 색상의 깔끔한 짠맛을 원할 경우 brix 기준 활성탄 20% 이상으로 정제를 하는 것이 적절할 것으로 판단됨.

표 2-16. 활성탄 첨가량에 따른 분말의 관능평가

분무 건조한 분말	
Brix 기준 2%	짠맛이 약하고, 잡맛, 이취가 남
Brix 기준 4%	단맛, 감칠맛이 남
Brix 기준 6%	4%와 비슷하나 단맛이 강함
Brix 기준 20%	색상이 하얗고, 향과 감칠맛이 약함
Brix 기준 30%	20%보다 색상이 더 하얗고, 향이 거의 없음. 깔끔한 맛이 남

- 활성탄을 많이 첨가할수록 활성탄에 흡착되어 제거되는 유기물의 양이 증가되어 염도가 높아질 것이라고 예상하였음. 활성탄 정제 후 염도를 측정된 결과 활성탄의 양이 증가할수록 염도가 증가한 것을 확인하였음. 활성탄의 양이 염도의 큰 차이를 주기 위해서는 많은 양을 넣어야 하며, 20% 이상에서는 활성탄의 양에 의한 차이가 약함.

표 2-17. 활성탄 첨가량에 따른 염도 값

Brix 기준	2%	4%	6%	20%	30%
염도(%)	62	64	65	68	69

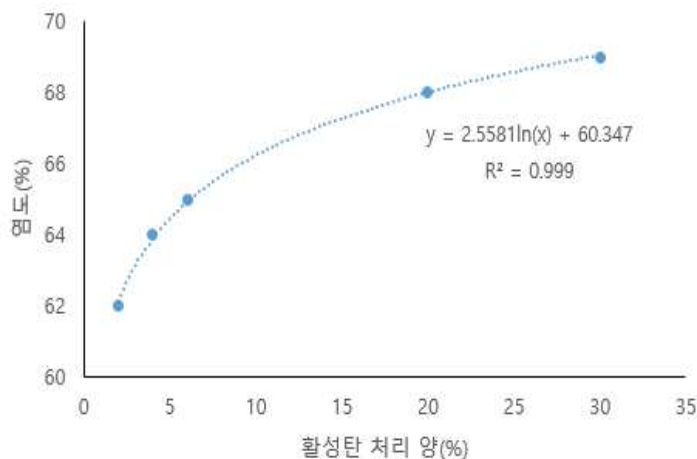


그림 2-13. 활성탄 첨가량에 따른 염도

(5) 활성탄 처리 온도 조건에 따른 탈색 탈취

- 활성탄 처리 온도 조건에 따른 탈색 및 탈취 효과를 비교하고자 40℃, 60℃, 80℃, 100℃에서 통통마디 착즙액에 볼륨 대비 활성탄 1%를 첨가한 후 1시간 동안 반응시킴. 반응 후 활성탄은 여과지로 여과하여 제거함.
- 활성탄 처리 온도가 높을수록 통통마디 착즙액의 색이 무색에 가깝게 탈색됨. 색차계를 이용하여 활성탄 정제액의 색도를 측정된 결과, 40℃에서 활성탄을 정제하였을 때 L값이 47.44이었으나, 100℃에서는 L값이 51.37로 증가하였고, b값은 3.88에서 -0.97로 감소함. 이 결과를 통해 활성탄 처리 온도가 증가할수록 밝기는 더 증가하였고, 황색이 감소함을 확인함.

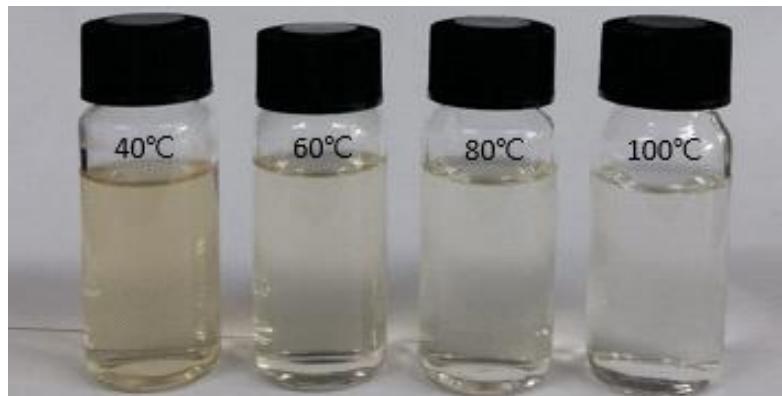


그림 2-14. 활성탄 처리 온도에 따른 용액의 색 차이

표 2-18. 활성탄 처리 온도에 따른 용액의 색도

	L	a	b
40℃	47.44 ± 0.01	0.52 ± 0.00	3.88 ± 0.01
60℃	48.55 ± 0.23	0.74 ± 0.04	0.51 ± 0.04
80℃	51.80 ± 0.12	0.96 ± 0.02	-0.84 ± 0.01
100℃	51.37 ± 0.05	0.94 ± 0.03	-0.97 ± 0.10

- 활성탄 정제 후 염도를 측정된 결과, 40℃, 60℃, 80℃는 큰 차이가 없었으나, 100℃에서 2.28%로 염도가 가장 높게 측정됨. 이는 100℃로 가열하면서 시료가 농축되어 염도가 높아진 것으로 판단됨. 온도가 증가할수록 통통마디 착즙액의 고미가 없어지고 맛이 깔끔해졌으며, 대신 감칠맛도 감소함. 같은 양의 활성탄으로 정제를 할 경우 100℃에서 활성탄 정제를 하는 것이 가장 효과가 좋은 것으로 판단함.

표 2-19. 활성탄 처리 온도에 따른 용액의 염도 및 관능평가

	염도	실험결과
40℃	1.74%	노란빛을 띄며, 비릿한 맛이 남
60℃	1.76%	고미가 없으며 80℃ 보다 감칠맛이 더 남
80℃	1.79%	고미가 없고 맛이 깔끔하나 80℃ 보다 감칠맛이 감소함
100℃	2.28%	거의 무색에 가까우며, 고미가 없고 맛이 깔끔함

(6) 활성탄 종류별 처리 온도 50℃ 및 100℃에서의 염도 및 기호도 변화

- 활성탄 종류별 처리 온도에 따라 통통마디 추출액의 염도 변화를 비교하였음. 추출액의 가용성고형물 대비 각 종류별 활성탄을 4% 첨가한 후 50℃ 및 100℃에서 각각 30분간 교반하며 반응시킴. 반응 후 활성탄은 원심분리 및 여과지를 사용하여 제거함.
- 각 활성탄은 50℃에서 100℃로 반응 온도가 높아짐에 따라 대체로 염도가 낮아지는 경향을 나타냄. 50℃의 반응에서는 KB-EVN을 제외하고는 염도가 약간 낮아지는 것으로 확인되었으나 100℃ 반응에서는 CGSP와 CN1 외에는 모두 큰 폭의 감소를 보임. 따라서 염의 소실을 최소화 하기 위해서 CGSP 또는 CN1의 사용이 바람직함.

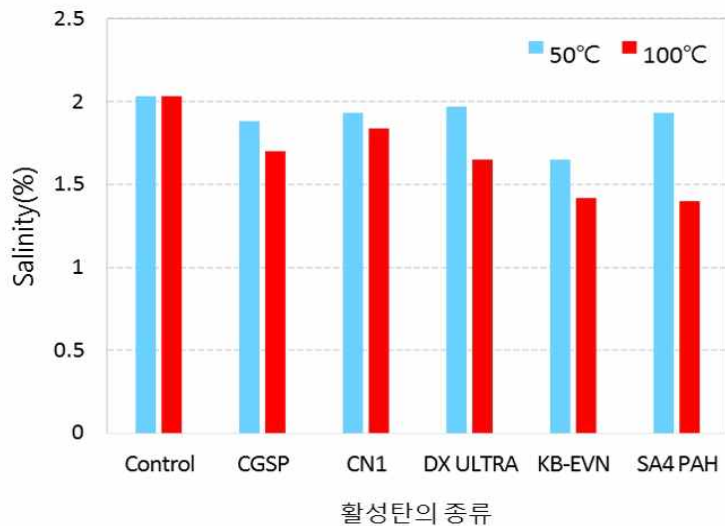


그림 2-15. 활성탄 종류별 처리 온도에 따른 통통마디 추출액의 염도 변화

- 통통마디 추출물 특유의 풀향이나 쓴맛 등 이미 및 이취의 제거 정도를 관능평가를 실시하여 확인하였음. 각 활성탄의 종류별 50℃ 반응과 100℃ 반응으로 나누어 그 변화된 기호성의 차이를 나타냄.

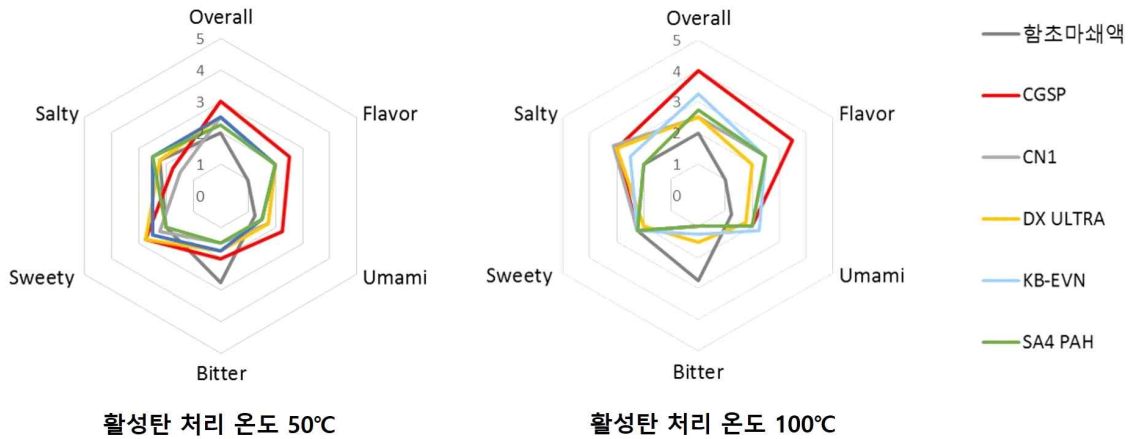


그림 2-16. 활성탄 종류별 처리 온도에 따른 관능평가

- 염도의 감소가 최소이면서 통통마디 추출물의 이미 및 이취가 제거되는 활성탄은 CGSP였으며 처리온도는 100°C에서 30분간 처리했을 경우에 기호성이 가장 높음을 확인함.

라. 규조토 여과를 통한 통통마디 추출물의 탈취 및 탈색

- 규조토는 여과보조제로써 활성탄을 제거하는 방법으로 주로 사용되고 있으며, 그 이외에도 탈색 및 탈취의 목적으로 활용되고 있음. 이 실험에서는 통통마디 추출물을 탈취 및 탈색하고자 규조토를 사용하였음. FN-6과 FW-60의 median particle diameter은 각각 12 um와 48 um로 FN-6이 FW-60보다 입자의 크기가 작아 여과 층을 만들었을 때 더 미세한 여과 층을 만들어 탈색 효과가 더 좋을 것으로 예측하였음.
- 활성탄을 처리하지 않고 규조토만 사용하였을 때 어느 정도의 정제효과가 있는지 비교 분석함. 규조토 FW-60으로만 여과했을 때와 규조토 FW-60으로 여과한 후 규조토 FN-6으로 2차 여과했을 때를 비교한 결과, 육안으로 확인했을 때에는 둘의 차이는 거의 없었으며, 색차계 측정 결과에서도 L값, a값, b값에서 거의 차이가 없었음.
- 실험결과 규조토 FN-6과 FW-60으로는 탈색의 효과가 없었음. 또한 규조토 FN-6은 여과 속도가 느려 여과를 할 경우 규조토 FW-60으로만 여과하는 것이 효율적이라고 판단됨. 규조토를 단독으로만 사용하면 탈색 및 탈취 효과가 떨어지기 때문에 활성탄과 함께 사용하는 것이 효과적이라고 판단됨.

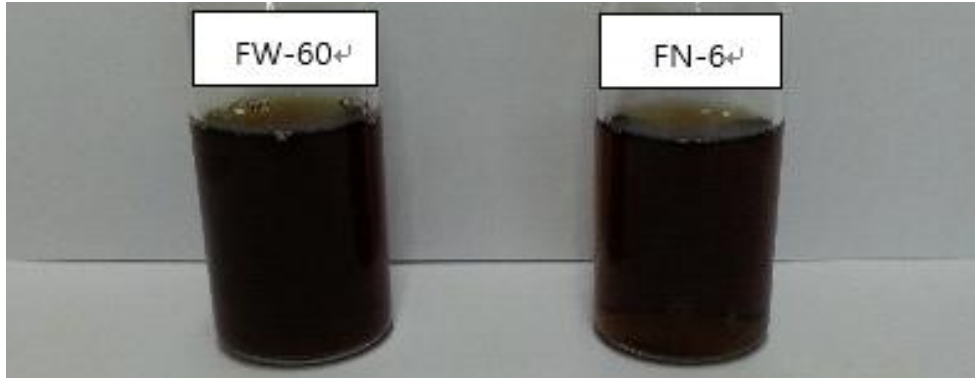


그림 2-17. 규조토 종류에 따른 색 차이

표 2-20. 규조토 종류에 따른 색도 측정

	L	a	b
FW-60	77.12 ± 0.01	0.30 ± 0.01	15.90 ± 0.01
FN-6	76.96 ± 0.01	0.05 ± 0.01	15.09 ± 0.00

마. 활성백토 처리를 통한 통통마디 추출물의 탈취 및 탈색

- 통통마디 추출물을 탈색 및 탈취를 하고자 활성백토를 활용하였음. 활성탄과 활성백토의 탈색 효율을 비교하고자 각각의 비표면적에 따른 첨가량을 결정함. 반응 시간은 활성탄 처리와 동일하게 40℃로 가온하여, 30분간 교반함.

(1) 활성백토 종류에 따른 탈색 및 탈취

- 활성백토 종류에 따른 통통마디 추출물의 탈색 정도를 비교하였다. 대조군인 통통마디 추출물의 L값이 26.29이었으며 이 값과 비교했을 때 Tonsil과 DA-P1의 L값은 각각 19.22와 21.27로 모두 L값이 낮게 나온 것을 확인함. Tonsil과 DA-P1 모두 추출물의 색을 더욱 어둡게 만들어 탈색 효과가 없는 것으로 판단됨.



그림 2-18. 활성백토 처리에 따른 색 차이

표 2-21. 활성백토 종류에 따른 색도 측정

	L	a	b
통통마디 추출물 (대조군)	26.29 ± 0.10	8.07 ± 0.06	9.95 ± 0.09
Tonsil	19.22 ± 0.03	2.35 ± 0.02	2.56 ± 0.03
DA-P1	21.27 ± 0.01	4.35 ± 0.04	4.70 ± 0.03

(2) 활성탄과 활성백토 혼합에 따른 탈색 탈취

- 활성탄과 활성백토를 혼합하여 이용하였을 때 통통마디 추출물의 탈색 정도를 비교하였음. 실험 결과, 활성탄만 사용한 추출물이 육안으로도 확연하게 밝은 것을 확인함. 색차계 측정 결과 또한 활성탄만 사용한 추출물의 L값이 27.73으로 가장 높게 나온 것을 확인함. 앞선 실험결과와 마찬가지로 활성백토는 탈색 효과가 없는 것으로 판단됨.



그림 2-19. 활성탄과 활성백토 처리에 따른 색 차이

표 2-22. 활성탄과 활성백토 혼합에 따른 색도 측정

	L	a	b
활성탄	27.73 ± 0.02	7.60 ± 0.02	10.80 ± 0.02
활성탄 + Tonsil	20.71 ± 0.01	3.76 ± 0.02	4.28 ± 0.03
활성탄 + DA-P1	24.03 ± 0.13	6.22 ± 0.10	7.83 ± 0.14

바. 이온교환수지 및 합성흡착제를 통한 통통마디 추출물의 탈취 및 탈색

- 이온교환수지 및 합성흡착제를 이용하여 통통마디 추출물의 탈색 효과를 확인하였음. 통통마디 추출물을 감압농축기로 농축하였으며, 이때 농축액의 염도는 11.6%임. 이온교환수지로는 SCR-BH (강산성 양이온 교환수지, gel type)와 CMP24LH (강산산성 양이온 교환수지, porous type)를 이용하였으며, 합성흡착제로는 HP20 (고다공성 Styrene계 합성흡착제, 분자량 1,000 이상 흡착)과 SP850 (분자량 1,000 이하의 작은 분자 흡착)을

이용함. 이온교환수지 및 합성흡착제는 증류수에 30분 이상 담가두었다가 가라앉은 것만 사용함. 컬럼에 이온교환수지 또는 합성흡착제를 1/3정도 채우고, 컬럼 안에 물을 완전히 제거한 후 시료를 통과시켰음.

- 실험 결과, 이온교환수지 SCR-BH와 CMP24LH를 통과한 통통마디 농축액이 모두 강산성으로 바뀌었고, 색이 탁해지고 냄새가 불쾌하게 변하였음. 합성흡착제 HP20은 시료의 통과 속도를 달리하여 실험을 진행함. 속도를 천천히 하여 통과했을 때는 탈색이 잘 되었으나 냄새가 변하였으며, 속도를 조금 더 빠르게 하여 통과했을 때는 탈색이 덜 되고, 냄새도 덜 변함. 반면 합성흡착제 SP850는 탈색이 되지 않음. 이온교환수지 및 합성흡착제를 이용한 결과 합성흡착제 HP20은 통통마디 농축액을 탈색하는데 효과를 보였지만 냄새가 좋지 않게 변함. 또한 다른 결과들에 따르면 통통마디 농축액을 탈색 및 탈취하는데 이온교환수지 및 합성흡착제는 적합하지 않은 것으로 판단됨.

표 2-23. 이온교환수지 및 합성흡착제 이용 후 염도 변화

		염도 (%)
통통마디 농축액 (대조군)		11.6
이온교환수지	SCR-BH	34.0
	CMP24LH	26.0
합성흡착제	HP20	10.9
	SP850	12.0

사. 응집법을 활용한 통통마디 추출물의 탈색 및 탈취

- 분무건조를 통해 추출물 내의 색소나 이미 성분을 열 변성으로 응집시킨 후 재 용해하여 제거하는 방법을 활용하였음. 열수 추출한 통통마디 추출액을 아무런 정제도 하지 않고 동결 건조함. 동결 건조한 분말 25 g을 물 500 mL에 녹인 후 원심분리 (10,000 rpm, 10 min)하여 고형분을 제거한 후 분무 건조함. 분무 건조한 분말을 물에 재 용해한 후 원심 분리하여 열변성에 의해 응집된 고형분을 제거하고 다시 분무 건조하였음.
- 정제하지 않은 시료를 원심분리 후 분무 건조하였을 때 b값이 13.24로 증가하였으며, 육안으로도 더 황색을 띄었음. 그러나 분무 건조한 시료를 재 용해 후 분무 건조하였을 때는 색차계 값의 차이가 없었음. 분무건조를 하면 열변성에 의해 색소나 이미지를 내는 색소 성분을 응집시켜 제거할 수 있을 것으로 생각하였으나, 관능평가를 하였을 때 쓴 맛이 남아있고, 색에서도 차이가 나지 않아 실험 결과 응집법에 의한 탈색 및 탈취 효과가 없었음.

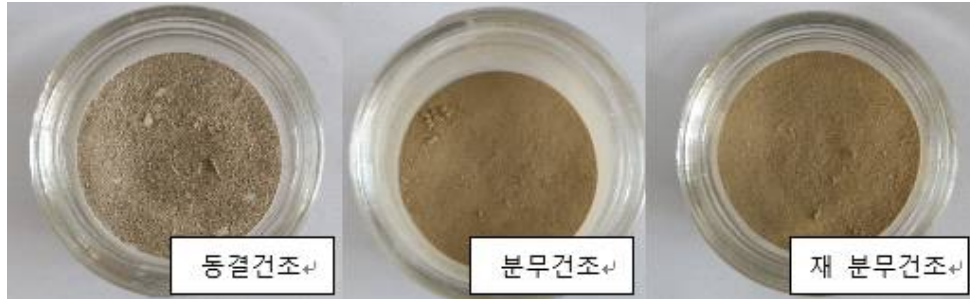


그림 2-20. 응집법 활용에 따른 분말의 색 차이

표 2-24. 응집법 활용에 따른 분말의 색차

	L	a	b
동결건조	59.16 ± 0.00	1.99 ± 0.00	8.19 ± 0.01
분무건조	58.71 ± 0.01	2.70 ± 0.04	13.24 ± 0.01
재 분무건조	58.08 ± 0.01	2.63 ± 0.01	12.89 ± 0.01

표 2-25. 응집법 활용에 따른 분말의 염도

	동결건조	분무건조	재 분무건조
염도 (%)	55	56	57

아. 주정을 이용한 통통마디의 탈색

- 식품의 탈색에 이용하는 소재의 하나로써 95% 에탄올인 식용 주정을 이용하여 통통마디 원료의 색을 탈색하고자 하였음. 주정에 정치시킨 것과, 진탕기(shaker)를 이용하여 시간에 따른 추출되는 색과 염도를 비교함.
- 주정을 이용한 탈색 효과를 비교하기 위하여 시간별로 추출하여 색도를 측정함. 그러나 주정에 의한 염 성분의 분리현상이 일어나 주정 추출을 통한 탈색효과는 기대하기 어려울 것으로 판단됨.

표 2-26. 주정을 이용한 통통마디 탈색물의 시간에 따른 색도 변화

시간 (hr)	정치			진탕기		
	L	a	b	L	a	b
0	97.75 ± 0.04	-3.55 ± 0.01	10.07 ± 0.04	97.75 ± 0.04	-3.55 ± 0.01	10.07 ± 0.04
3	88.17 ± 0.25	-22.19 ± 0.03	71.54 ± 0.00	84.84 ± 0.05	-25.63 ± 0.01	79.21 ± 0.02
6	81.47 ± 0.69	-28.53 ± 0.08	89.19 ± 0.30	78.26 ± 0.03	-30.46 ± 0.09	89.02 ± 0.06
9	83.60 ± 0.01	-26.58 ± 0.02	80.80 ± 0.05	77.63 ± 0.23	-32.90 ± 0.03	91.90 ± 0.22
12	84.15 ± 0.13	-26.78 ± 0.11	83.93 ± 0.06	74.32 ± 0.03	-34.18 ± 0.00	91.40 ± 0.02
15	86.03 ± 0.76	-23.27 ± 0.33	76.87 ± 0.56	74.83 ± 0.06	-33.13 ± 0.07	90.89 ± 0.13
18	83.27 ± 0.17	-24.95 ± 0.10	79.87 ± 0.06	74.72 ± 0.01	-33.75 ± 0.11	90.62 ± 0.01
21	81.31 ± 0.05	-25.67 ± 0.00	82.59 ± 0.11	71.92 ± 0.32	-33.10 ± 0.16	89.52 ± 0.20
24	81.35 ± 0.36	-25.12 ± 0.15	81.59 ± 0.25	71.62 ± 0.01	-32.96 ± 0.01	89.20 ± 0.01

표 2-27. 주정을 이용한 통통마디 탈색물의 시간에 따른 염도 분석

시간 (hr)	정치	진탕기
	염도 (%)	염도 (%)
0	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00
3	0.35 ± 0.01	0.42 ± 0.00
6	0.43 ± 0.00	0.54 ± 0.00
9	0.44 ± 0.00	0.54 ± 0.00
12	0.48 ± 0.01	0.60 ± 0.00
15	0.43 ± 0.00	0.59 ± 0.00
18	0.49 ± 0.00	0.61 ± 0.01
21	0.51 ± 0.00	0.62 ± 0.00
24	0.51 ± 0.00	0.62 ± 0.00

자. 농축 정도 차이에 따른 탈색

○ 통통마디 추출물의 농축 정도에 따른 탈색 정도를 비교하였음. 통통마디 추출물을 감압농축기로 농축하여 농축액의 brix가 각각 9.2, 15.6, 22.9 brix가 되도록 함. 각각의 농축액에 활성탄 처리를 한 후 분무건조를 하여 탈색 정도를 비교함. 그러나 농축 정도 차이에 의한 탈색효과는 기대하기 어려울 것으로 판단됨.



그림 2-21. 농축 정도에 따른 분말의 색 차이

표 2-28. 농축 정도에 따른 분말의 색차

	L	a	b
9.2 Brix	73.76 ± 0.07	-0.02 ± 0.01	12.94 ± 0.01
15.6 Brix	76.69 ± 0.03	0.02 ± 0.01	13.46 ± 0.01
22.9 Brix	76.91 ± 0.01	-0.18 ± 0.00	13.38 ± 0.01

- 통통마디 추출물 및 농축액의 탈색 및 이미 이취를 제거하기 위하여 활성탄, 규조토, 활성백토, 이온교환 수지, 합성 흡착제, 응집법, 주정을 활용하였음. 정제 결과, 활성탄을 제외한 방법들에서는 탈색 및 이미 이취 제거 효과를 기대하기 어려울 것으로 사료됨.
- 활성탄 정제 실험 결과, 활성탄의 원료(식물계 vs 석탄계)에 따른 정제 효과는 큰 차이가 없었음. 활성탄의 형상에 따른 정제 실험 결과에서는 입상 활성탄 보다 분말 활성탄으로 정제 하였을 때 정제액의 색도 중 a값, b값이 감소함을 확인할 수 있었는데, 이는 입상 활성탄 보다 분말 활성탄의 표면적이 더 넓기 때문에 정제 효과가 더 좋은 것으로 사료됨. 또한 활성탄 처리 온도가 높을수록 추출물의 이미 이취 제거 및 탈색 등 활성탄 정제 효과가 좋았으며, 100℃에서 활성탄 정제를 하는 것이 가장 효과가 좋은 것으로 판단됨.
- 활성탄의 첨가량에 따른 정제 실험 결과, 활성탄 첨가량이 증가할수록 통통마디 농축액 특유의 쓴맛이나 탄 맛, 탄 냄새 등의 이미 및 이취를 제거하였으며, 탈색 효과가 증가하여 노란색 분말에서 하얗게 탈색된 분말을 제조할 수 있었음. 그러나 활성탄 첨가량이 증가할수록 이미 이취뿐만 아니라 감칠맛 또한 제거됨을 확인할 수 있었다. 활성탄이 비선택적으로 성분을 제거하기 때문에 제거하고자 하는 성분 이외의 다른 성분 또한 제거한다. 현재 색소 성분이나 이미 이취를 내는 성분이 분명하게 알려져 있지 않지만 이후 연구를 통해 성분을 밝혀내어 그 성분만 제거하는 방법을 모색해야 할 것임. 활성탄의 첨가량이 증가할수록 제거되는 유기 성분의 양이 증가하여 염도가 증가됨을 확인할 수 있었음. 활성탄의 첨가량 조절을 통해 염도 및 감칠맛의 조절이 가능할 것을 사료됨

3. 식물성 소금대체재의 염도 다양화 기술 개발

가. 농축 정도에 따른 염도의 다양화

- NaCl과 다른 무기염 (KCl, CaCl₂, NH₄Cl 등)들의 온도에 따른 용해도(solubility) 차이를 이용하여 NaCl을 제거하고자 함. 통통마디 추출물을 감압농축기로 농축하여 NaCl이 석출되기 직전이 포화 상태를 만들어 포화용액을 2배, 3배 농축하여 NaCl을 결정화하여 제거함.
- 농축에 따른 용액의 색차를 비교한 결과, 포화용액의 L값은 22.45, 포화용액 2배 농축은 19.65로 농축으로 인해 용액이 색이 더 어두워짐. 또한 육안으로도 포화용액이 포화용액 2배 농축보다 더 붉고 밝음.



그림 3-1. 농축 정도에 따른 탈염 용액

표 3-1. 농축 정도에 따른 탈염 용액의 색차

	L	a	b
포화 농축	22.40 ± 0.01	9.00 ± 0.03	6.72 ± 0.03
포화 2배 농축	19.65 ± 0.02	6.80 ± 0.04	3.74 ± 0.02

- 농축액을 분무 건조하여 분말로 제조함. 그 결과 농축이 많이 된 분말일수록 색이 더 어두워짐을 육안으로 확인할 수 있었으며, 색차를 비교한 결과 포화용액의 L값은 81.49, 포화용액 2배 농축은 76.03, 포화용액 3배 농축은 75.87로 농축으로 인해 분말의 색이 더 진해짐을 확인함.



그림 3-2. 농축 정도에 따른 탈염 분말

표 3-2. 농축 정도에 따른 탈염 분말의 색차

	L	a	b
포화 농축	81.49 ± 0.01	0.48 ± 0.00	15.06 ± 0.01
포화 2배 농축	76.03 ± 0.01	0.96 ± 0.01	16.59 ± 0.01
포화 3배 농축	75.87 ± 0.01	1.30 ± 0.04	17.80 ± 0.01

- 농축 후 분무 건조한 분말의 일반성분을 분석한 결과, 농축을 오래 하여 결정을 많이 석출하여 제거할수록 조회분 함량이 포화 용액 67.11%에서 포화용액 2배 농축 52.88%, 포화용액 3배 농축 45.88%로 점점 더 낮아짐. 조회분의 함량이 감소함에 따라 수분, 조단백, 조지방, 탄수화물은 증가함.

표 3-3. 농축 정도에 따른 탈염 분말의 일반성분

	포화 농축	포화 2배 농축	포화 3배 농축
수분 (%)	2.36	2.94	3.94
조회분 (%)	67.11	52.88	45.88
조단백 (%)	8.61	12.35	13.80
조지방 (%)	2.22	2.86	2.81
탄수화물 (%)	19.70	28.97	33.57

- 특히 농축 정도에 따른 탈염 분말의 미네랄 성분 분석 결과, 조회분의 함량이 감소하면서 Na와 Cl의 함량은 감소하는 반면 다른 미네랄 성분들의 함량은 증가함.. 포화 용액의 Na 함량은 22,323.12 mg/100이었으나, 포화용액 2배 농축 15,158.60 mg/100g, 포화용액 3배 농축 12,238.87 mg/100g으로 점점 더 낮아짐.
- Cl 함량 또한 포화 용액의 38,964.23 mg/100이었으나, 포화용액 2배 농축 22,624.12 mg/100g, 포화용액 3배 농축 20,600.04 mg/100g으로 점점 더 감소함. 그러나 K 함량은 포화 용액의 3,440.31 mg/100에서 포화용액 2배 농축 4,805.17 mg/100g, 포화용액 3배 농축 5,366.42 mg/100g으로 점점 더 증가하였음.

표 3-4. 농축 정도에 따른 탈염 분말의 미네랄 함량

	포화 농축	포화 2배 농축	포화 3배 농축
Na (mg/100g)	22,323.12	15,158.60	12,238.87
NH ₄ (mg/100g)	522.31	619.64	621.67
K (mg/100g)	3,440.31	4,805.17	5,366.42
Mg (mg/100g)	1,029.18	1,641.03	1,943.73
Ca (mg/100g)	267.52	399.68	429.37
Cl (mg/100g)	38,964.23	22,624.12	20,600.04

- 농축으로 석출되어 제거된 염으로 인하여 Na 함량이 감소하고, K 함량이 증가함.. Na와 K의 함량은 비교한 결과, 포화 용액인 경우 Na와 K의 함량 비가 6.5 : 1이었으나, 포화용액 2배 농축은 3.2 : 1, 포화용액 3배 농축은 2.3 : 1로 농축이 많이 될수록 Na와 K의 함량 비의 차이가 감소함.

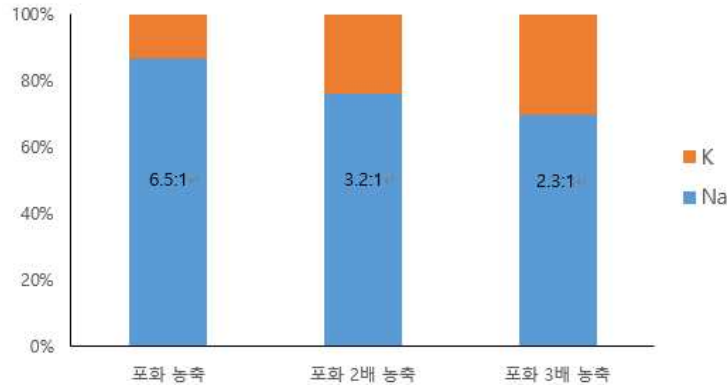


그림 3-3. 농축 정도에 따른 탈염 분말의 Na와 K 함량 비교

- 농축이 많이 될수록 총 염의 함량이 감소하였고, 또한 NaCl의 함량도 감소하였다. 농축으로 석출된 결정의 대부분이 NaCl로 생각되며, 이 방법을 통해 NaCl의 함량을 31% 까지 감소시킨 저나트륨 소금대체재를 제조함.

표 3-5. 농축 정도에 따른 염 함량

	염도 (%)	Total Salts (%)	NaCl (%)
포화 농축	65.00	65.46	56.63
포화 2배 농축	52.00	50.64	38.54
포화 3배 농축	47.00	44.38	31.11

- 농축 정도에 따른 탈염 분말의 아미노산 함량을 측정한 결과, 포화 용액의 총 아미노산의 함량이 2.262 g/100g이며, 포화 용액 2배 농축은 3.241 g/100g으로 그 함량이 증가함을 확인함. 특히 농축을 통해 감칠맛을 내는 아미노산 성분인 glutamic acid의 함량이 0.766 g/100g에서 1.070 g/100g으로 1.4배 증가하여 감칠맛 또한 증가하였을 것으로 판단됨.

표 3-6. 농축 정도에 따른 탈염 분말의 아미노산 함량

	포화 농축	포화 2배 농축
Cysteine (g/100g)	0.040	0.038
Methionine (g/100g)	0.020	0.047
Aspartic acid (g/100g)	0.260	0.371
Threonine (g/100g)	0.066	0.094
Serine (g/100g)	0.118	0.167
Glutamic acid (g/100g)	0.766	1.070
Glycine (g/100g)	0.079	0.119
Alanine (g/100g)	0.104	0.151
Valine (g/100g)	0.107	0.155
Isoleucine (g/100g)	0.073	0.104
Leucine (g/100g)	0.073	0.105
Tyrosine (g/100g)	0.049	0.069
Phenylalanine (g/100g)	0.073	0.108
Lysine (g/100g)	0.072	0.108
Histidine (g/100g)	0.034	0.049
Arginine (g/100g)	0.090	0.133
Proline (g/100g)	0.238	0.353
Total (g/100g)	2.262	3.241

나. 농축에 의해 석출된 염 분석

- 농축 과정으로 인해 석출된 염이 어떤 성분으로 구성이 되어있는지 분석하였음. 분석 시료는 농축 시 생성된 염과 침전물에 물을 넣고 재 용해한 후 분무건조기로 건조한 것을 사용함. 포화 2배 농축 시 생성된 염과 포화 3배 농축 시 생성된 염의 일반 성분 및 미네랄, 아미노산 성분을 분석함.



그림 3-4. 농축에 의해 석출된 염 분말

표 3-7. 농축에 의해 추출된 염 분말의 색차

	L	a	b
포화 2배 농축	81.88 ± 0.01	0.58 ± 0.01	11.45 ± 0.01
포화 3배 농축	80.73 ± 0.01	0.70 ± 0.01	12.78 ± 0.01

- 일반성분 분석 결과, 포화 2배 농축 추출 염과 포화 3배 농축 추출 염 모두 조회분의 함량이 80% 이상으로 대부분 미네랄로 구성되어 있음을 확인함.

표 3-8. 농축에 의해 추출된 염의 일반성분

	포화 2배 농축 추출 염	포화 3배 농축 추출 염
수분 (%)	0.89	1.28
조회분 (%)	86.26	82.52
조단백 (%)	3.30	4.41
조지방 (%)	1.04	1.60
탄수화물 (%)	8.51	10.19

- 추출 염의 미네랄 성분 중 대부분이 Na와 Cl 이었으며, 이를 NaCl 함량으로 환산한 결과, 포화 2배 농축 추출 염은 NaCl 78.11%, 포화 3배 농축 추출 염은 NaCl 72.42%였다. 포화 용액을 농축하면서 제거되는 주성분은 NaCl 이나 농축을 계속 진행할 경우 KCl 및 MgCl₂, NH₄Cl 등 기타 무기염의 함량이 증가하였음. 이를 통해 포화 용액을 농축함으로써 NaCl을 탈염하여 저나트륨 소금 대체재를 제조할 수 있으나, 농축을 많이 하면 기타 무기 염 또한 소량 제거 될 수 있음을 확인할 수 있었음. 또한 농축으로 추출된 염을 염도 80% 이상의 제품으로 활용할 수 있을 것을 생각됨.

표 3-9. 농축에 의해 추출된 염의 미네랄 함량

	포화 2배 농축 추출 염	포화 3배 농축 추출 염
Na (mg/100g)	321,829.53	302,950.94
NH ₄ (mg/100g)	3,377.00	3,902.94
K (mg/100g)	12,548.78	16,762.60
Mg (mg/100g)	4,174.66	5,471.15
Ca (mg/100g)	1,183.17	1,690.61
Cl (mg/100g)	504,653.04	478,625.17

표 3-10. 농축에 의해 추출된 염의 염 함량

	염도 (%)	Total Salts (%)	NaCl (%)
포화 2배 농축 추출 염	84.00	83.22	78.11
포화 3배 농축 추출 염	79.00	78.97	72.42

- 농축 시 석출된 염에서의 아미노산 함량 분석 결과, 총 아미노산의 함량이 1.001 g/100g 로 측정됨. 이는 분석에 사용된 시료에 결정뿐만 아니라 농축으로 발생한 침전물들까지 재 용해하여 섞였기 때문이라고 판단됨.

표 3-11. 농축에 의해 석출된 염의 아미노산 함량

	포화 2배 농축 석출 염
Cysteine (g/100g)	0.023
Methionine (g/100g)	0.009
Aspartic acid (g/100g)	0.115
Threonine (g/100g)	0.036
Serine (g/100g)	0.056
Glutamic acid (g/100g)	0.299
Glycine (g/100g)	0.042
Alanine (g/100g)	0.048
Valine (g/100g)	0.050
Isoleucine (g/100g)	0.035
Leucine (g/100g)	0.039
Tyrosine (g/100g)	0.030
Phenylalanine (g/100g)	0.041
Lysine (g/100g)	0.035
Histidine (g/100g)	0.015
Arginine (g/100g)	0.039
Proline (g/100g)	0.089
Total (g/100g)	1.001

다. 여과방법에 따른 염도 다양화

- 통통마디 추출액을 깔때기 필터, 필터 페이퍼, 셀룰로오스 필터 등 다양한 pore size 필터들을 큰 사이즈에서 작은 사이즈로 단계적으로 여과를 진행하여 분자량이 큰 유기물질이나 부유물질을 제거함으로써 다음 단계인 탈색공정에 도움을 줄 뿐 아니라 식물소금의 염도를 높일 수 있음.
- 원심분리기 (1236MG, GYROZEN, Korea)로 전처리를 한 여과액을 정밀여과기 (WHEATON 진공여과장치, Korea)와 한외여과기 (Labscale TFF System, MILLIPORE, U.S.A.)로 여과한 후 염도의 변화를 측정하였고 다시 여액을 분무건조기 (SD-06, LabPlant, U.K)로 건조하여 건조소금의 염도의 변화를 측정하여 비교함.
- 실험결과, 멤브레인 필터의 pore size가 작을수록 유기물이 많이 제거되어 염도가 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 한외여과하였을 때 5,000 dalton 멤브레인을 이용하면 염도를 87.3%까지 높일 수 있었음. 이를 통해 정밀여과 및 한외여과를 통하여 유기물 함량을 제어하여 염도를 조절할 수 있는 것으로 판단됨.



그림 3-5. 여과방법별 식물성 소금대체제

표 3-12. 통통마디 열수추출액의 여과 방법별 염도 비교

실험	여과 전	정밀여과			한외여과		
	Control	1.0µm 멤브레인	0.45µm 멤브레인	0.1µm 멤브레인	1,000,000 dalton 멤브레인	300,000 dalton 멤브레인	5,000 dalton 멤브레인
추출액	4.05%	4.18%	4.22%	4.31%	4.47%	4.53%	5.17%
건조소금	57.8%	60.8%	65.6%	70.6%	72.8%	75.7%	87.3%

- 식물성 소금 대체제의 염도 다양화 방법으로 농축과 여과 방법을 활용함. 농축 방법을 활용하여서는 NaCl과 다른 무기염 (KCl, CaCl₂, NH₄Cl)들의 온도에 따른 용해도 차이를 이용하여 NaCl을 제거하고자 하였다. 통통마디 추출물을 농축하여 NaCl을 결정화하여 제거함. 농축을 오래 할수록 농축액의 색이 어두워졌으며, 이를 분무 건조하자 분말의 색도 또한 어두워짐을 확인함.
- 농축 정도에 따른 일반성분의 분석 결과, 농축을 오래 하여 석출되어 제거된 염이 많아질수록 조회분의 함량이 감소하고, 수분, 조단백, 조지방, 탄수화물의 함량이 증가함. 특히 미네랄 성분 분석 결과를 통해 조회분의 함량이 감소하면서 Na와 Cl의 함량은 감소하는 반면 다른 미네랄 성분들의 함량은 증가함을 알 수 있었는데, 농축을 통해 제거되는 염의 대부분이 NaCl임을 유추할 수 있음. 또한 Na가 제거됨에 따라 아미노산의 함량이 증가하였는데 특히 감칠맛을 내는 아미노산 성분인 glutamic acid의 함량이 1.4 배 증가하여 감칠맛 또한 증가하였을 것으로 판단됨. 농축을 통해 NaCl 31% (염도 47%)인 저나트륨 소금 대체제를 제조할 수 있음.
- 반면, 여과 방법을 활용하여서는 필터의 pore size를 조절함으로써 염도를 다양화 할 수 있었음. 필터의 pore size가 작을수록 유기물이 많이 제거되어 염도가 증가함을 확인할 수 있었으며, 특히 한외여과 하였을 때 5,000 dalton 멤브레인을 이용할 경우 염도가 87.3%인 소금 대체제를 제조할 수 있음.
- 이상의 결과에서, 농축을 통해서도 염도가 낮고, 감칠맛이 증가된 소금 대체제를 제조할 수 있으며, 여과를 통해서도 염도 및 순도 높은 소금 대체제를 제조할 수 있음.

마. 식물성 소금대체제(파이토솔트)의 Technical Sheet

Specification		PhytoSalt	
		#105	#120
Form		Powder	Powder
Color		Cream	Cream
Use		Salt Substitute	Salt Substitute
Sodium Chloride(NaCl)		53.66%	56.82%
Total Salts		65.99%	65.51%
Sodium(Na) Reduction Effect		18.68%	13.26%
Raw Material		100% Salicornia Plant Extract	100% Salicornia Plant Extract
Additives		None	None
GMO		GMO-Free	GMO-Free
Labeling (Nutritional Components)	Calorie (Kcal/100g)	108.48	98.86
	Carbohydrate (%)	17.91	16.84
	Crude protein (%)	9.87	9.47
	Crude fat (%)	0.42	0.34
	Moisture (%)	4.16	4.61
	Ash (%)	67.64	68.74
	Sodium (mg/100g)	21,575.36	20,864.16
	Saccharide (%)	Not Detective	Not Detective
	Saturated fatty acid (%)	Not Detective	Not Detective
	Trans fatty acid (%)	Not Detective	Not Detective
	Cholesterol (mg/100g)	Not Detective	Not Detective
	Dietary fiber (%)	3.21	4.72

Cation Analysis (mg/100g)	Na	21,107.21	22,403.80
	NH ₄	1,567.01	434.19
	K	3,076.28	3,163.21
	Mg	976.35	902.21
	Ca	653.55	499.90
Anion Analysis (mg/100g)	Cl	39,634.11	39,064.88
	Br	104.48	156.55
	NO ₃	59.20	130.08
	SO ₄	1,382.12	1,487.57
Amino Acids (g/100g)	PO ₄	465.34	713.60
	Cysteine	0.053	0.053
	Methionine	0.028	0.014
	Aspartic acid	0.294	0.254
	Threonine	0.097	0.088
	Serine	0.173	0.153
	Glutamic acid	0.793	0.738
	Glycine	0.077	0.067
	Alanine	0.117	0.106
	Valine	0.167	0.148
	Isoleucine	0.086	0.091
	Leucine	0.089	0.091
	Tyrosine	0.067	0.109
	Phenylalanine	0.098	0.090
	Lysine	0.108	0.076
Histidine	0.032	0.028	
Arginine	0.092	0.076	
Proline	0.251	0.233	

Heavy Metal Analysis	As (mg/kg)	Not Detective	Not Detective
	Cu (mg/kg)	Not Detective	Not Detective
	Pb (mg/kg)	Not Detective	Not Detective
	Cd (mg/kg)	Not Detective	Not Detective
	Hg (mg/kg)	Not Detective	Not Detective
Residual Pesticides (246 Pesticides)		Not Detective	Not Detective

4. 글로벌 식품회사와의 샘플테스트 및 업무 협력 실적

- 본 연구 결과로 개발된 식물성소금 대체재(PhytoSalt) 시제품을 수출 상품화하기 위하여 3개의 대형 글로벌 식품회사와 샘플테스트 진행중임. 해외 수요자 기호 정보 교환을 통한 구매자 요구에 부응하는 식물성 조미소재 개발을 위하여 해외 글로벌 식품회사의 책임자가 당사 방문하여 공동연구 추진을 합의하고 MOU 체결함
- 당사와는 2014년 식물성소금 대체재(PhytoSalt) 유럽 시장 진출을 위한 Business Collaboration MOU를 체결한 바 있으며 주요 내용은 다음과 같음
 - 당사가 개발한 식물성소금 대체재(PhytoSalt) 샘플테스트 수행
 - 글로벌 시장의 소비자가 원하는 식물성소금 대체재 flavor 공동 개발
 - 식물성소금 대체재의 'B to C' 및 'B to B' 스페인 마켓 진출을 위한 business collaboration 수행
- 2014년 9월 이래 수차례의 식물성소금 대체재 샘플 테스트를 수행하였으며 테스트 결과가 아주 좋아서 당사 제품을 글로벌 식품사의 제품 원료로 활용하기 위한 인증절차(homologation process)를 진행하기 위한 다음의 서류들을 요청해 온 바 2015년 7월 중 관련 서류 준비하여 제출함
 - Statement of GMO presence
 - Food Allergen & Intolerance
 - Flowchart Process
- 현재 글로벌사에서 당사 제품의 내부 인증 절차가 진행되고 있으며 이 절차가 성공적으로 종료될 시 당사 제품의 대량 수출이 가능할 것으로 전망 됨
- 2013년 중국 시장의 라면 점유율 1위인 아시안 식품업계의 부설연구소와 샘플테스트가 순조롭게 진행 중에 있으며 현재 당사 식물성소금 대체재를 면 제품에 활용할 식품 관련 규정을 검토하고 있음
- 2015년 현재 일본 스낵 식품 시장 점유율 1위이며 11개국에 제품을 수출하고 있는 글로벌 식품업체와 식물성소금 대체재를 제품에 적용하기 위한 샘플 테스트를 진행하는 한편 당사에 투자를 검토하기 위한 조건들을 문의하고 있음

5. 기능성 검증을 위한 전임상 실험 수행

- 본 연구개발 과제 목표물인 ‘식물성 소금대체제(파이토솔트)’의 혈압 영향 평가를 시험하기 위하여 Sprague-Dawley rat 와 자연발증 고혈압 동물인 SHR(Spontaneously Hypertensive Rat)을 대상으로 파이토솔트를 시험 물질로 하여 6주간 수행하였으며, 수행기관은 경기도 구리시에 위치한 한국동물의과학연구소 이며 실험 수행 내역 및 결과는 다음과 같음.

가. 실험 수행 내용

- 본 시험은 Sprague-Dawley rat 및 자연발증 고혈압 동물인 SHR (spontaneously hypertensive rat)에서 시험물질 파이토솔트의 8 주 반복 투여가 혈압에 미치는 영향을 평가하기 위하여 수행하였다 (G1: 부형제대조군 (SD), G2: 부형제대조군 (SHR), G3: NaCl 800 mg/head/day 투여군 (SD), G4: NaCl 800 mg/head/day 투여군 (SHR), G5: 파이토솔트 1400 mg/head/day 투여군 (SD), G6: 파이토솔트 1400 mg/head/day 투여군 (SHR)으로 하여 설계되었으며, 본 시험에 사용하는 랫드는 각종 약효 및 독성시험에 널리 사용되고 있고, 풍부한 시험 기초 자료가 축적되어 있으며, 이러한 자료를 이용하여 시험결과의 해석 및 평가가 용이하기 때문에 선택하였다. 또한, SHR은 자연발증 고혈압 동물로 심혈관 관련 실험에 널리 사용되고 있고, 이러한 자료를 이용하여 시험결과의 해석 및 평가가 용이하기 때문에 선택하였음. 사용된 동물의 수는 SD 30마리, SHR이 30마리로서, 순화기간(청색), 투여 및 관찰기간(붉은색) 동안 미부표식법을 사용하여 식별하였다. 사육상자에는 색으로 구별되는 개체식별카드를 부착하였고, 사육실 입구에는 동물실 사용 기록지를 부착하였음.

(1) 사육환경

본 시험은 온도 23 ± 3 °C, 상대습도 55 ± 15 %, 환기횟수 10~20 회/hr, 조명시간 12 시간 (오전 8시 점등~오후 8시 소등) 및 조도 150~300 Lux로 설정한 설치류 사육구역 2 호실에서 실시 하였으며, 사육기간 중 동물실의 온습도는 환기횟수 및 조도 등의 환경조건은 주 1 회 측정하였다. 환경측정 결과 시험의 결과에 나쁜 영향을 끼칠만한 이상은 관찰되지 않았음. 순화 기간 및 실험 기간 동안 설치류용 폴리카보네이트 사육상자 (W 235 x L 380 x H 175 mm)에서 3 마리/사육상자 이하로 사육하였음. 사육상자, 깔개 및 물병은 주 1 회 이상 교환하였으며, 순화기간 중 건강하다고 판정된 동물들의 체중을 측정하고 순위화한 체중에 따라 각 군의 평균체중이 최대한 균일하게 분포하도록 무작위법으로 분배하였음.

(2) 시험군 구성 및 투여량 설정

시험군은 G1: 부형제대조군 (SD), G2: 부형제대조군 (SHR), G3: NaCl 800 mg/head/day 투여군 (SD), G4: NaCl 800 mg/head/day 투여군 (SHR), G5: 파이토솔트 1400 mg/head/day 투여군 (SD), G6: 파이토솔트 1400 mg/head/day 투여군 (SHR). 등 6개군으로 구성하였음. 투여량은 파이토솔트의 NaCl 함유량은 약 56.5 %이므로 정제염 (NaCl

99 %) 4 %에 대응하는 파이토솔트는 7 %임. 랫드의 하루 평균 사료섭취량을 약 20 g으로 간주하고, NaCl 4 % 함유 사료를 급이할 경우, 동물은 하루에 약 800 mg의 NaCl을 섭취하게 됨. 따라서 NaCl을 투여하는 G3 및 G4의 투여량을 800 mg/head/day로 설정하였으며, 파이토솔트를 투여하는 G5 및 G6의 투여량을 1400 mg/head/day로 설정하였음.

표 5-1. 시험군 별 투여량

군	성별	동물수 (마리)	동물번호	동물종	투여물질	투여량 (mg/head/day)	투여액량 (mL/head/day)
G1	M	10	1-10	SD	-	-	
G2	M	10	11-20	SHR	-		
G3	M	10	21-30	SD	NaCl	800	2
G4	M	10	31-40	SHR	NaCl	800	2
G5	M	10	41-50	SD	파이토솔트	1,400	2
G6	M	10	51-60	SHR	파이토솔트	1,400	2

(3) 투여횟수, 기간, 및 투여방법

경구투여로 1회/일, 8 주간 투여하며, 16:00 이전에 투여하는 것을 원칙으로 하였으며, 동물을 경배부 피부 고정법으로 고정하고, 경구투여용 존테를 이용하여 위 내에 직접 투여하였음

(4) 관찰 및 검사항목

체중은 군분리 또는 시험물질 투여개시일, 그 이후에는 주 1 회 및 부검일에 측정하였으며, 사료 및 물 섭취량은 시험물질 투여개시일, 그 이후에는 주 1 회 측정하였다. 측정방법은 사료 및 물을 정량 급여한 다음 날 잔량을 사육상자 단위로 측정하여 그 차이를 계산하였고, 마리당 평균섭취량으로 산출하였음. 혈압측정은 시험물질 투여개시전, 투여개시 후 2, 4, 6 및 8 주째에 tail-cuff plethysmography (BP-2000; Visitech Systems, Apex, North Carolina, USA)로 동물의 혈압을 측정하였음

(5) 통계학적 분석

본 시험의 결과에 대하여 자료의 정규성을 가정하고 모수적인 일원분산분석 (One-way ANOVA)을 적용하였음. ANOVA 결과가 유의하였을 경우, Dunnett's multiple comparison test를 이용하여 사후검정을 실시하여 시험군간 유의한 차이를 확인하였음. 통계학적 분석은 Prism 5.03 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)을 이용하였으며, p값이 0.05 미만일 경우, 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였음.

나. 파이토솔트의 항고혈 효능 실험 결과

(1) 체중

시험물질 투여개시 후 2 주째 (Week 2)부터 6 주째 (Week 6)까지 SHR 부형제대조군 (G2), SHR NaCl 800 mg/head/day 투여군 (G4) 및 SHR 파이토솔트 1400 mg/head/day

투여군 (G6)의 체중이 SD 부형제대조군 (G1)에 비하여 통계학적으로 유의하게 낮았고 ($p<0.001$), SD NaCl 800 mg/head/day 투여군 (G3) 및 SD 파이토솔트 1400 mg/head/day 투여군 (G5)의 체중은 SHR 부형제대조군 (G2)에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났음 ($p<0.001$).

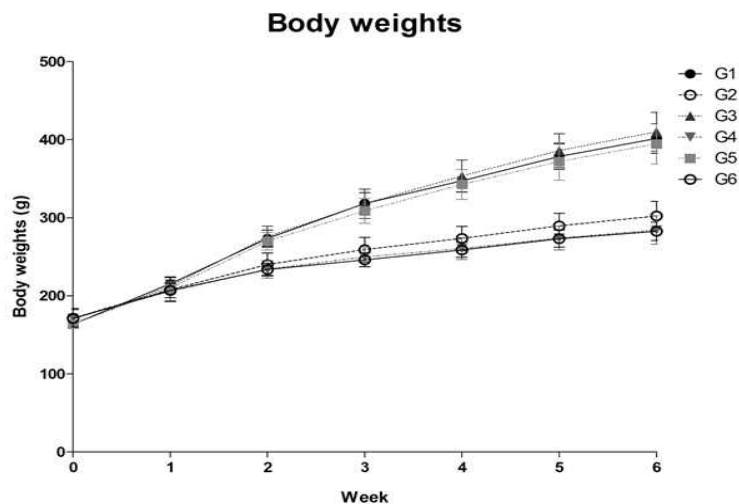


그림 5-1. 파이토솔트 투여군의 체중 변화량

(2) 사료 섭취량

시험물질 투여개시 후 2, 3 및 4 주째에 G2, G4 및 G6의 사료섭취량이 G1에 비하여 유의하게 낮았고 ($p<0.001$, $p<0.01$ 또는 $p<0.05$), G3 및 G5의 사료섭취량은 G2에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났음 ($p<0.001$, $p<0.01$ 또는 $p<0.05$). 시험물질 투여개시 후 5 주째에 G6의 사료섭취량은 G1에 비하여 유의하게 낮았고 ($p<0.05$), G3 및 G5의 사료섭취량은 G2에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났음 ($p<0.01$). 시험물질 투여개시 후 6 주째에 G2, G4 및 G6의 사료섭취량이 G1에 비하여 유의하게 낮았으며 ($p<0.001$ 또는 $p<0.01$), G3 및 G5의 사료섭취량은 G2에 비하여 유의하게 높았음 ($p<0.001$).

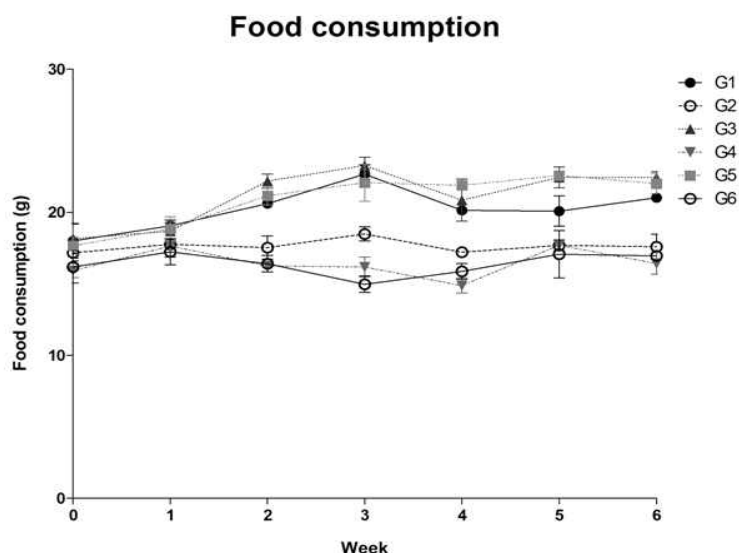


그림 5-2. 파이토솔트 투여군의 사료섭취량 변화

(3) 물섭취량

시험물질 투여개시 후 1 주째에 G2의 물섭취량은 G1에 비하여 유의하게 낮았고 ($p < 0.05$), G5의 물섭취량은 G1에 비하여 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). G3, G4, G5 및 G6의 물섭취량은 G2에 비하여 유의하게 높았음 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$). 시험물질 투여개시 후 2 주째에 G5의 물섭취량은 G1 및 G2에 비하여 유의하게 높았음 ($p < 0.05$ 및 $p < 0.01$). 시험물질 투여개시 후 3 및 4 주째에 G3 및 G5의 물섭취량은 G1에 비하여 유의하게 높았고 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$), 시험물질 투여개시 후 3 주째에 G3 및 G5의 물섭취량은 G2에 비하여 유의하게 높았으며 ($p < 0.001$ 및 $p < 0.01$), 시험물질 투여개시 후 4 주째에 G3의 물섭취량은 G2에 비하여 유의하게 높았음($p < 0.05$).

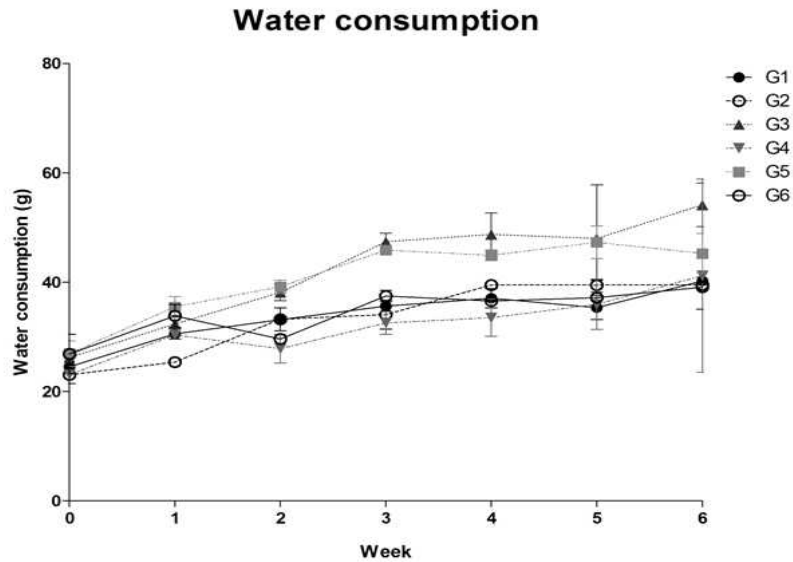


그림 5-3. 파이토솔트 투여군의 물 섭취량 변화

(4) 혈압

시험물질 투여개시 후 0, 2, 4 및 6 주째에 혈압 측정을 실시하였음. 수축기 (systolic) 혈압의 경우, 시험물질 투여개시 후 0, 2, 4 및 6 주째에 G2, G4 및 G6는 G1에 비하여 유의하게 높았고 ($p < 0.001$), G3 및 G5은 G2에 비하여 유의하게 낮았음 ($p < 0.001$). 시험물질 투여개시 후 4 및 6 주째에 G4는 G2에 비하여 유의하게 높았고 ($p < 0.01$), 시험물질 투여개시 후 6 주째에 G3는 G1에 비하여 유의하게 높았음 ($p < 0.001$, $p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$).

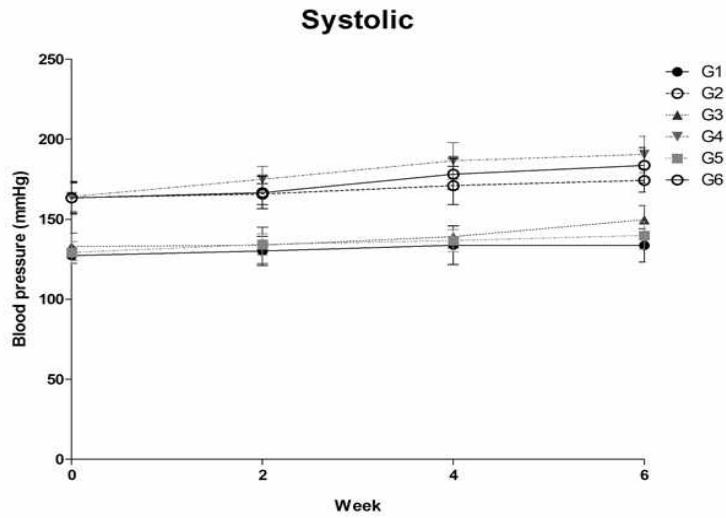


그림 5-4. 파이토솔트 투여군의 수축기 혈압 변화량

이완기 (diastolic) 혈압의 경우, 시험물질 투여개시 후 0, 2, 4 및 6 주째에 G2, G4 및 G6는 G1에 비하여 유의하게 높았고 ($p < 0.001$), G3 및 G5은 G2에 비하여 유의하게 낮았으며 ($p < 0.001$), 시험물질 투여개시 후 4 및 6 주째에 G4 및 G6는 G2에 비하여 유의하게 높았음 ($p < 0.001$, $p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$)

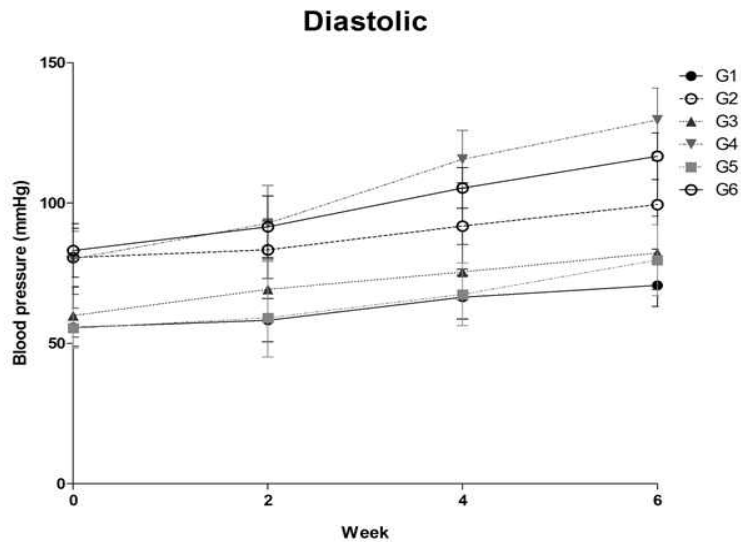


그림 5-5. 파이토솔트 투여군의 이완기 혈압 변화량

6. 식물성 소금대체제의 물성 및 제형 다양화

가. 다양한 식품 품목군에 적합한 제품의 물성 개선

(1) 스프, 라면, 스낵류에 적합한 씨즈닝 형태

- 파이토솔트 자체에는 일반 소금에는 없는 통통마디 유래에서 온 다량의 glutamic acid를 포함하고 있지만, 라면 스프, 스낵류 등에 단독으로 사용할 수 있을 정도의 수준은 아님. 따라서 분무건조한 미세분말의 파이토솔트에 씨즈닝을 더할 수 있는 야채추출분말을 더하였음. 야채추출물은 본 연구진에서 직접 제작한 것으로 국내산 다시마 30 g에 국내산 배추, 무, 양파를 넣어 2시간 우려낸 후 농축하여 분무건조로 얻어낸 분말임. 천연식품 중 핵산계열의 물질은 동물성식품 원료에 주로 함유되어 있으므로 식물성 소금대체재에서는 미생물을 이용하여 제작된 핵산계 원료(IMP+GMP, CJ)를 사용함. 씨즈닝의 단맛 보충을 위해 분말의 입자가 비슷한 슈가 파우더를 사용하였음. 이들을 실험실에서 연구원을 대상으로 관능평가를 시행해 가며 최적의 비율을 조정하였음.
- 최종적으로는 최적 비율을 고려하여 통통마디 열수추출물에 야채추출농축액, 핵산계 원료, 및 당원을 첨가하여 50℃에서 균일하게 혼합한 후 분무건조기를 이용하여 분무건조하여 최종 씨즈닝 제품을 개발하였음. 그러나 각각의 분말을 혼합하는 경우에 비해 분무건조 중 약 90℃의 노즐을 순간적으로 통과하면서 발생한 열로 인해 파이토솔트-S의 색이 더 짙어졌으며 약간의 카라멜화 된 향이 생성된 것을 확인할 수 있었음(그림 6-2). 사용할 목적에 따라 무향의 밝은 색 씨즈닝의 경우 파이토솔트를 분말화하여 분말간의 혼합에 의해 제작할 수 있으며, 색의 밝기에 관계없이 라면스프와 유사한 짙은 향의 씨즈닝이 요구될 경우 농축액 상태로 혼합 후 분무건조하여 생산할 수 있는 공정을 개발함.



그림 6-1. ‘파이토솔트-S(시즈닝파이토솔트)’ 분말의 혼합



그림 6-2. 파이토솔트-S(시즈닝파이토솔트)를 제작하기 위해 모든 원료를 액상으로 혼합 후 분무건조

(2) 제과 제빵에 적합한 물성

○ 분무건조하여 제작한 미세 분말 타입의 파이토솔트와 100 μ m, 500 μ m로 과립화 한 파이토솔트-G100, 파이토솔트-G500을 이용하여 동일 염도로 크래커를 제조한 결과 입자의 크기에 따라 반죽 시간이 짧은 쿠키반죽의 특성에 의해 반죽 속에 고르게 녹는 정도가 달라 관능평가 시 소금이 뭉쳐서 짠 것과 덜 짠 것 등이 나타남. 따라서 반죽 시간이 짧은 제과용으로는 밀가루 등과 입자가 비슷한 미세분말 또는 파이토솔트-G100 정도가 적합할 것으로 사료됨. 기타 반죽의 색이나 굽는 시간, 굽고 난 후 베이킹된 정도 등은 분말의 입자 크기와는 관계가 없었음(그림 6-3). 또한 밀가루 반죽시 0.5%의 파이토솔트를 반죽에 첨가하여 반죽하여 면의 색, 맛, 탄력성등을 관능평가 한 결과 일반 소금으로 반죽한 면과 차이 없이 탄성이 좋은 것을 확인하였음.

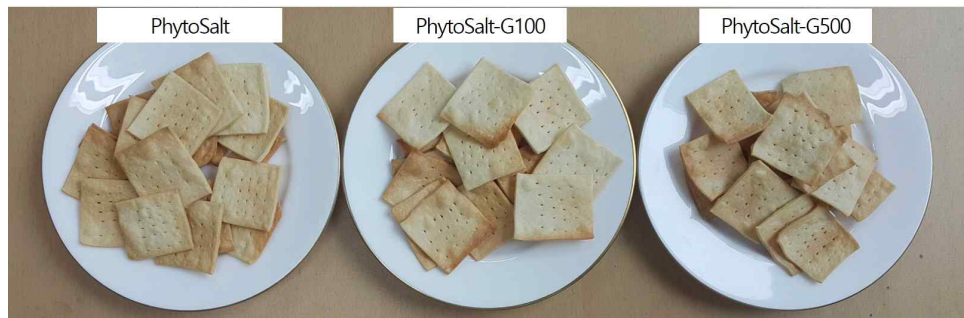


그림 6-3. 파이토솔트 입자 크기에 따른 제과적성 테스트

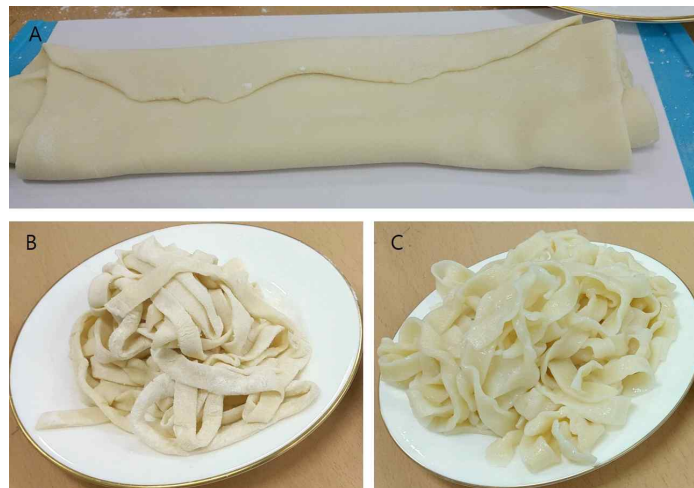


그림 6-4. 파이토솔트의 제면 적성 테스트 : A: 파이토솔트 첨가 밀가루 반죽, B: 파이토솔트 첨가 면의 삶기 전, C: 파이토솔트 첨가 면을 100 $^{\circ}$ C 5분 삶아낸 후

나. 분말, 과립 등 다양한 제형 개발

○ 통통마디 열수추출액을 염도 18% 정도로 농축하여 활성탄 4% 처리 후 분무건조기를 이용하여 분무건조하여 파이토솔트를 제작하였음. 이때 입자의 크기는 표준노즐을 통과

하였으므로 대표입자 값(중양값)이 31.38 μm 임.

- B to B 용으로는 분산력 및 분말의 혼합도 등을 고려하여 분말타입을 그대로 제품화할 것이나 B to C 용으로는 미세분말은 흡입 등의 문제를 일으킬 수 있으므로 소비자가 손쉽게 다룰 수 있는 형태인 과립 분말 제형으로 개발하고자 하였음. 과립화의 방법은 건조 커피 분말 생산 시 chamber에서 재순환하면서 응집하는 방법을 응용하여 실험실에서 실시하였음. 분무건조하여 분말화한 파이토솔트는 수분함량이 매우 낮은 상태임. 이에 미세 입자의 표면에 응집반응을 유도하기 위하여 농축된 통통마디 열수추출액을 미스트 상태로 분무하였으며 약 60 $^{\circ}\text{C}$ chamber 안에서 열을 가하며 응집을 유도하였음. 30분간 응집을 유도한 후 상온으로 냉각하여 100 μm , 500 μm , 1mm 의 체(sieve)로 걸러서 크기 별로 분류하였음. 파이토솔트의 미세분말은 'PhytoSalt'로 명명하며, 과립은 각 사이즈에 따라 'PhytoSalt-G' series(PhytoSalt-G100, PhytoSalt-G500, PhytoSalt-G1000)로 표기함. 과립의 사이즈가 커짐에 따라 색이 짙어졌으나 동일 농도의 염용액으로 제조시 과립도와 관계없이 용액의 색은 동일하였음.



그림 6-5. 미세분말의 과립화

7. 건조공정 및 입도제어를 통한 염미강도 조절

가. 추출액의 농축정도, 유기물 함량 정도, 노즐의 크기 등 다양한 건조 조건 분석

(1) 분무건조, 동결건조 등 다양한 건조 방법에 따른 수율 및 효율성

- 분무건조시 표준노즐(직경 2, PF-2850-SS)을 이용하여 분무공기의 압을 달리했을 경우 생성되는 입자의 구경(μm)이 다름을 표 7-1에서와 같이 알 수 있음. 동일한 염도

(염도 18%)의 통통마디 농축액을 200 ml 분무건조(outlet 92℃, blower 0.4) 후 회수통에 모인 분말의 무게를 측정 후 건조기에서 70℃로 2시간 충분히 수분함량의 변화가 없을 때 까지 건조하여 변화된 무게를 측정함. 분무공기압의 세기가 커서 입자의 크기가 작을수록 표면적이 넓어져 수분함유율이 큼을 알 수 있으며 이 경우 최종 분무건조 제품은 충분히 건조하여야 함을 알 수 있음.

표 7-1. 분무공기 압력에 따른 입자의 구경 변화

분무공기압(kgf/cm ²)	1.0	1.5	2.0	2.5
대표입자 값(μm)	31.4	24.1	19.8	18.1
분무건조 직후와 건조기에서 건조 후 무게의 차이(g)	7.02	7.63	8.05	8.29

(2) 통통마디 추출액의 고형분 함량, 분무속도, 온도조절 등에 따른 수율

- 통통마디 열수추출액의 농축액을 활성탄 무처리, 활성탄 2%, 활성탄 3%, 활성탄 4%, 활성탄 5% 처리하여 각각 200 ml씩 최종 염농도 18%에서 분무건조함. 분무건조 후 건조기에서 70℃, 2시간 건조하여 잔여 수분을 모두 제거한 후 1g/10ml의 농도로 물에 녹여 염도계와 brix meter를 이용하여 염도 및 가용성고형분의 양을 측정하여 비교함. 표 7-2에서와 같이 활성탄 처리량이 늘어날수록 활성탄에 흡착되는 유기물의 양이 늘어나기 때문에 최종 파이토솔트에 brix대비 염농도가 높아짐을 확인할 수 있음. 따라서 필요에 따라 활성탄 처리량을 달리하여 파이토솔트의 염농도를 조절할 수 있을 것임.

표 7-2. 활성탄 처리량에 따른 파이토솔트의 고형분 함량 변화

활성탄 처리량(%)	0	2	3	4	5
염도(%)	7	6.5	6.4	6.6	6.3
Brix(%)	13	12	11	11	10
염도/Brix	0.53	0.54	0.58	0.60	0.63

- 분무건조의 outlet 온도를 85±1℃, 90±1℃, 95±1℃로 고정하고 blower 속도를 0.4로 하여 표준노즐(직경 2)로 분무건조를 실행함. 통통마디 농축액(염도 18%)을 활성탄 4%로 처리 후 200 ml를 분무건조 후 회수통에 모인 파이토솔트는 건조기에서 70℃로 2시간 건조하여 잔여 수분을 제거함. 각기 다른 온도 조건에서 분무건조한 파이토솔트 0.1g을 1ml의 물에 녹여 염도 및 brix를 측정함. 분무건조 온도가 높을수록 고형분함량이 줄어들어 파이토솔트의 염도가 상대적으로 증가함을 확인함. 이는 고형분 중 유기물이 변성 또는 회화되어 줄어드는 것으로 사료됨. 그러나 분무건조의 특성상 85℃의 낮은 온도에서 분무건조시 습하고 무거운 공기에 의해 사이클론으로 분말이 넘어가기 전 영겨 붙는 현상이 발생하므로 회수율이 현저히 낮아지므로 분무건조시 outlet의 온도는 90℃

이상 95℃미만이 바람직할 것으로 판단함.

표 7-3. 분무건조 온도에 따른 파이토솔트의 고형분 함량 변화

Outlet 온도(℃)	85±1	90±1	95±1
염도(%)	6.0	6.1	6.3
Brix(%)	10	10	10
염도/Brix	0.6	0.61	0.63

나. 입자 크기에 따른 식감 개선 및 염미 강도 조절

○ 분무건조기의 표준노즐(직경2)를 이용하여 분무압력 1kgf/cm²으로 분무건조하여 얻은 평균 입자 크기인 31 μ m의 미세분말(A)과 이를 고온에서 수분을 가하여 응집시켜 과립화 한 평균입자크기 100 μ m(B) 및 500 μ m(C)의 관능평가를 실행함. 가장 작은 입자인 A는 혀 끝에 닿자마자 찌르는 듯한 짠맛을 느끼는 반면 입자의 크기가 커질수록 짠맛이 천천히 느껴지는 것을 확인함. 사용 용도에 따라 국이나 음식에 사용하는 경우는 입자 크기가 작게, 직접 소금에 찍어 먹는 용으로 사용할 경우 과립형이 더 적합함을 확인할 수 있었음.

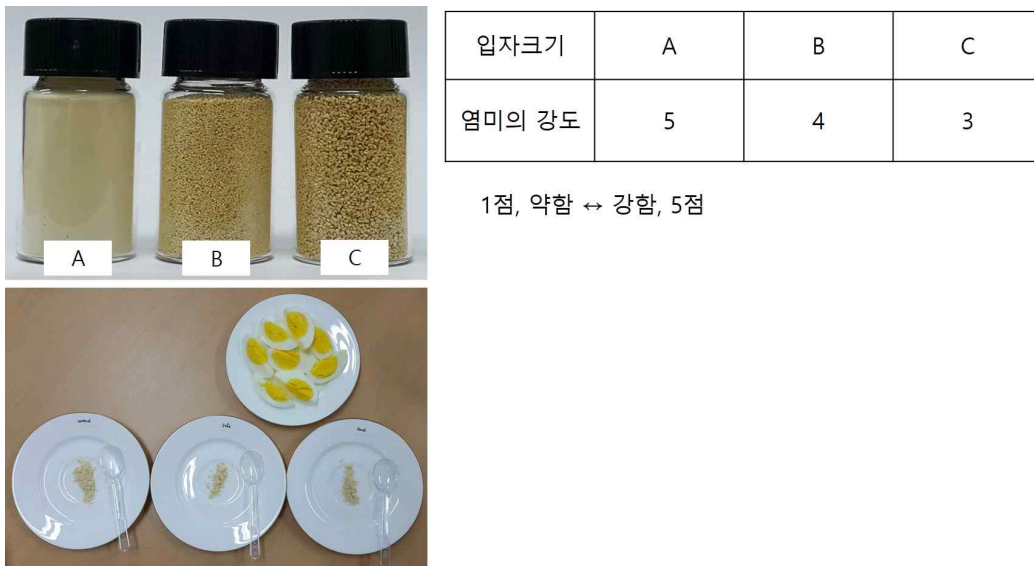


그림 7-1. 파이토솔트 입자 크기에 따른 식감 및 염미 강도

8. 산화에 의한 갈변 및 산화취 억제 공정 개발

가. 산화에 의한 갈변 및 산화취 최소화 농축조건 도출

○ 열수추출물의 농축은 총 4가지 방법을 이용함. 농축방법 첫 번째는 진공 저온 농축 추출기를 이용하여 100℃의 온도로 직접 가열하는 농축방법으로 염도 22~24%까지 농축하였고, 총 농축시간은 23시간정도 소요됨.

- 두 번째 농축방법인 경서추출기를 이용한 증탕방식의 농축방법은 외부 물의 온도를 103℃로 설정하여 내통의 열수추출액의 온도가 90℃이하에서 증발될 수 있게 조절함. 염도가 22~24%가 될때까지 농축하였고, 총 농축시간은 16시간정도 소요됨.
- 세 번째 농축방법은 감압농축기를 이용한 농축으로 먼저 진공 저온 농축 추출기를 이용하여 열수추출물의 염도가 10%가 될 때까지 감압농축을 실시하고, 원심분리한 뒤 그 상등액을 감압농축기를 이용하여 추출액의 염도가 22~24%가 될 때까지 농축함. 이 때 water bath의 물의 온도는 60℃로 설정하였고, 총 농축시간은 31시간이 소요됨.
- 네 번째 농축방법인 Hotplate stirrer를 이용한 농축방법은 먼저 진공 저온 농축 추출기를 이용하여 열수추출물의 염도가 10%가 될 때까지 감압농축을 실시함. 원심분리한 뒤 그 상등액을 hot plate stirrer를 이용하여 추출액의 염도가 22~24%가 될 때까지 농축함. 이 때 농축액의 온도는 약 90℃를 유지하였고, 총 농축시간은 26시간이 소요됨.

표 8-1. 농축방법에 따른 염도, brix 및 농축소요시간

농축방법	염도	Brix	총 양(L)	농축소요시간
①	23.6	39	1.75	23시간
②	24	41	1.95	16시간
③	23.9	41	2	31시간
④	23.8	40	2.2	26시간

- 표 8-1을 보면 염도를 23~24%로 맞췄을 때 Brix는 큰 차이가 없음. 총 양은 경서추출기로 직접 가열한 ①의 농축방법으로 했을 때 가장 적게 나왔는데, 이는 농축시 끓어서 넘치는 loss가 발생하여 최종 농축액의 양이 차이가 나는 것으로 보여짐. 농축소요시간은 경서추출기로 진공 농축하는 ②이 가장 짧았고, ①,④는 비슷함. ③의 경우 감압농축할 때 물의 온도가 60℃로 낮아 농축하는데 가장 오랜 시간이 소요된 것으로 보여짐.

표 8-2. 농축방법에 따른 통통마디 농축액의 색도

농축방법	L*	a*	b*
①	23.64±0.12	11.63±0.07	6.46±0.07
②	22.09±0.09	6.43±0.05	3.69±0.05
③	26.02±0.07	14.95±0.20	10.64±0.18
④	24.68±0.11	12.66±0.07	8.52±0.05

- 표 8-2는 농축액의 갈변화 비교를 위한 색도 측정 결과임. a*값이 6.43±0.05, b*값이 3.69±0.05으로 ②이 가장 갈변화가 덜 된 것을 확인함. ①과②는 비슷하였고, ③은 L*,a*,b*값이 각각 26.02±0.07, 14.95±0.20, 10.64±0.18으로 가장 갈변화가 많이 발생함. ②은 증탕방식의 진공농축으로 직접적인 열을 받지 않고 농축소요시간이 짧아 갈변화가

덜 발생한 것으로 보여짐. ③은 60℃의 비교적 낮은 온도에서 농축하였지만, 다른 농축 방법에 비해 농축소요시간이 길어져 갈변화가 많이 발생한 것으로 보여짐.

표 8-3. 농축방법에 따른 통통마디 농축액의 산화취에 대한 5점척도 관능평가

	①	②	③	④
산화취	3.3±1.16	1.7±0.95	1.8±0.92	3±1.63

※ 1점: 산화취가 거의 나지 않는다 ~ 5점: 산화취가 강하다

- 표 8-3은 농축액의 산화취를 5점척도 평점법으로 관능평가 한 결과임. 유의적인 큰 차이는 없었지만 ①, ④가 상대적으로 산화취가 좀 더 강하였고, ②, ③은 산화취가 약함. 또한 ①, ④는 쓴내와 단내가 나는데 특히 ①의 쓴내와 단내가 강함. ②는 특별한 냄새는 나지 않았고, ③은 약간의 단내가 남. ①, ④는 농축하는 동안 계속해서 열을 직접적으로 받기 때문에 중탕방식의 농축방법보다 산화취 및 쓴 냄새가 강하게 나고, 카라멜화 반응에 의한 단 냄새가 강하게 나는 것으로 보여짐.
- 농축방법에 따른 열수추출 농축액의 갈변화, 산화취, 농축효율 등을 비교해 본 결과, ②(경서추출기를 이용하여 진공 농축하는 방법)이 농축시간이 가장 짧아 효율적이고, 갈변 및 산화취를 최소화 할 수 있어 열수추출액의 농축공정에 가장 적합한 조건으로 판단됨.

9. 식물성 소금대체재의 대량 생산을 위한 공정 개발

- 식물성 소금대체재를 생산하는 공정흐름도는 그림 9-1과 같음. 원료(통통마디)는 세척 공정에서 고압세척 및 살균, 탈수를 하고, 냉장 또는 냉동실에 보관함.
- 세척 된 통통마디는 정량하여 세절을 실시하고, 일정한 비율의 물을 공급하여 추출탱크에서 열수추출을 실시함. 추출이 끝난 후에는 통통마디를 압착하여 제거하고, 남은 여액은 중탕방식의 진공농축방법으로 농축공정을 실시함.
- 농축 후에는 원심분리를 통해 찌꺼기를 제거하고 정제공정을 실시함. 활성탄 정제를 통해 통통마디 열수추출 농축액의 탈색 및 탈취가 이루어짐.
- 정제 및 여과가 끝난 후에는 분무건조를 통해 열수추출 농축액을 파우더 형태로 만듦. 이 후의 공정은 B2B제품으로서 파우더 형태 그대로 포장이 이루어지고, B2C제품용으로는 과립화 공정을 거쳐 파우더를 과립형태의 소금으로 만든 뒤 포장을 실시함. 각가 포장된 제품은 보관하면서 제품의 품질을 검사하고 출고함.

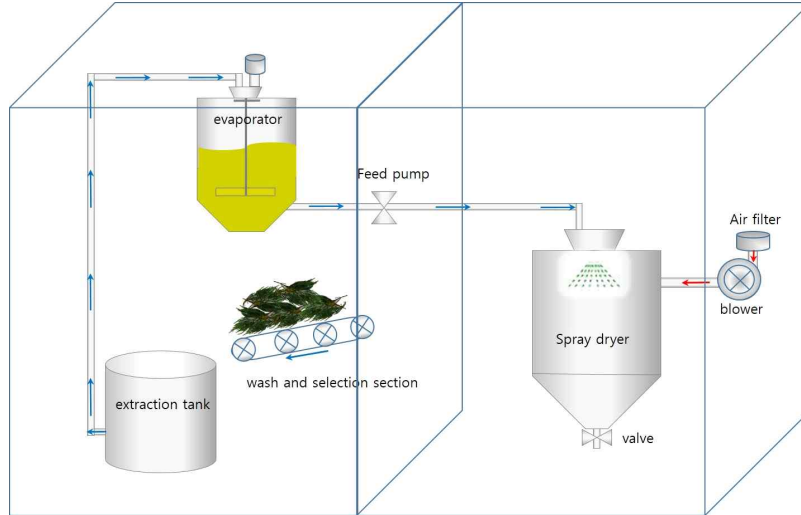
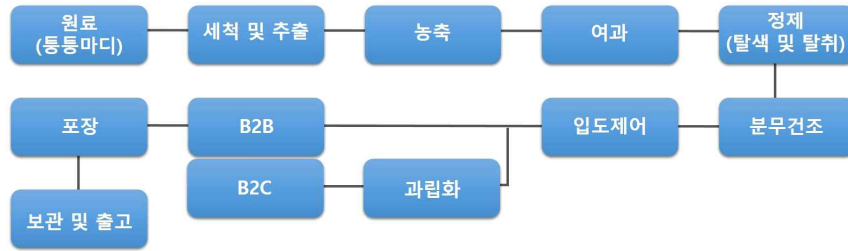


그림 9-1. 식물성 소금대체재의 대량생산 공정도

- 식물성 소금대체재 대량생산공정의 배출물질 조사는 <전국 폐기물 발생 및 처리현황> (환경부, 2014)을 참고함. 원료의 세척과정에서는 세척수의 폐수가 발생하고, 추출 및 농축과정에서는 원료 추출 후 부산물, 농축 후 침전물의 동식물성 잔재물·냉각수·응축수의 폐수가 발생함. 정제 및 여과과정에서는 폐흡착제 폐기물이 발생하고, 분무건조 및 과립화 과정에서는 분진류의 폐기물이 발생함.
- 각 단계에서 발생하는 폐수는 정도에 따라 화학적처리, 생물학적처리를 실시하여 방류하고, 열수추출 후 생기는 통통마디박을 활용할 수 있는 방안을 준비함.

10. 식물성 소금대체재의 기호성 개선

가. 특성차이검사- 순위법

- 식물성 소금대체재의 기호도 조사에 적합한 평정법의 관능 평가 방법 개발을 위해 특성차이검사로 순위법과 평점법,, 묘사분석으로 정량묘사분석을 선택하여 시행함.
- 특성차이검사에서 순위법으로 관능검사 하여 검사물 A는 활성탄 5% 처리, B는 활성

탄 4% 처리, C는 활성탄 3% 처리로 나타냄. 결과분석은 순위법의 유의성검정표를 이용하여 최소-최대 비유적 순위합에 의해 유의성을 검정함. 순위법의 유의성 검정표에 따르면 5%유의수준(n=8, 시료수=3)에서 시료간의 순위합계범위는 11~21임. 따라서 종합적기호도에서 각 시료간의 순위 합계 범위를 살펴보면, 시료 A와 B는 11~13, A와 C는 11~24, B와 C는 13~24임. 이 중 기준 범위인 11~21을 벗어나는 경우는 11~24인 A와 C, 13~24인 B와C로 종합적 기호도에서 유의적 차이가 있다고 할 수 있음. 색에서 각 시료간의 순위 합계 범위를 살펴보면, 시료 A와 B는 14~24, A와 C는 10~24, B와 C는 10~14임. 모든 경우가 기준 범위인 11~21을 벗어나기 때문에 A와B, A와C, B와C 모두 색깔에서 유의적 차이가 있다고 할 수 있음. 향에서 각 시료간의 순위 합계 범위를 살펴보면, 시료 A와 B는 14~24, A와 C는 10~24, B와 C는 10~14임. 모든 경우가 기준 범위인 11~21을 벗어나기 때문에 A와B, A와C, B와C 모두 향에서 유의적 차이가 있다고 할 수 있음. 짠맛에서 각 시료간의 순위 합계 범위를 살펴보면, 시료 A와 B는 9~19, A와 C는 9~21, B와 C는 19~21임. 이 중 기준 범위인 11~21을 벗어나는 경우는 9~19인 A와B, 9~21인 A와C로 짠맛에서 유의적 차이가 있다고 할 수 있음. 단맛에서 각 시료간의 순위 합계 범위를 살펴보면, 시료 A와 B는 13~24, A와 C는 11~24, B와 C는 11~13임. 모든 경우가 기준 범위인 11~21을 벗어나기 때문에 A와B, A와C, B와C 모두 단맛에서 유의적 차이가 있음을 판단함. 쓴맛에서 각 시료간의 순위 합계 범위를 살펴보면, 시료 A와 B는 15~24, A와 C는 9~24, B와 C는 9~15임. 모든 경우가 기준 범위인 11~21을 벗어나기 때문에 A와B, A와C, B와C 모두 단맛에서 유의적 차이가 있다고 할 수 있음. 순위법의 경우 다른 방법보다는 시간이 적게 들고 간단하지만, 시료 간의 특성차이를 알 수 없는 단점이 있어 식물성 소금대체제의 기호도 조사에 적합한 관능평가는 아닌 결과를 얻을 수 있음.

n	항목	A	B	C	항목	A	B	C	항목	A	B	C
1	overall acceptance	1	2	3	color	3	2	1	flavor	3	2	1
2		2	1	3		3	2	1		3	2	1
3		1	2	3		3	1	2		3	2	1
4		1	2	3		3	2	1		3	2	1
5		2	1	3		3	2	1		3	1	2
6		1	2	3		3	1	2		3	2	1
7		1	2	3		3	2	1		3	1	2
8		2	1	3		3	2	1		3	2	1
순위 합계		11	13	24		24	14	10		24	14	10
n	항목	A	B	C	항목	A	B	C	항목	A	B	C
1	salt taste	1	2	3	sweet taste	3	1	2	bitter taste	3	2	1
2		1	3	2		3	1	2		3	2	1
3		2	2	3		3	2	1		3	2	1
4		1	2	3		3	1	2		3	2	1
5		1	2	3		3	2	1		3	2	1
6		1	2	3		3	2	1		3	2	1
7		1	3	2		3	2	1		3	2	1
8		1	3	2		3	2	1		3	1	2
순위 합계		9	19	21		24	13	11		24	15	9

표 10-1. 3가지 시료에 대한 순위 결과

나. 특성차이검사- 평점법

○ 특성차이검사에서 평점법으로 관능검사 한 결과 표1-2, 1-3과 같음. 패널별로 각 시료에 대한 평가 점수를 정리한 후 패널과 시료별 점수 합계를 계산한 뒤 분산 분석방법으로 유의성을 검정함. 본 실험에서 종합적기호도의 평가결과를 토대로 계산하여 얻은 시료의 F값인 7.84는 기준이 되는 F값인 3.74보다 크게 나타남. 색의 평가결과를 토대로 계산하여 얻은 시료의 F값인 47.44는 기준이 되는 F값인 3.74보다 컸음. 향의 평가결과를 토대로 계산하여 얻은 시료의 F값인 21.80는 기준이 되는 F값인 3.74보다 큼. 짠맛의 평가결과를 토대로 계산하여 얻은 시료의 F값인 4.83는 기준이 되는 F값인 3.74보다 큼. 단맛의 평가결과를 토대로 계산하여 얻은 시료의 F값인 13.36는 기준이 되는 F값인 3.74보다 컸음. 쓴맛의 평가결과를 토대로 계산하여 얻은 시료의 F값인 60.20는 기준이 되는 F값인 3.74보다 큼. 따라서 유의수준 5%에서 활성탄 처리가 다른 세 종류의 시료는 종합적 기호도, 색, 향, 짠맛, 단맛, 쓴맛에 통계적으로 유의한 차이가 있다고 판정 할 수 있음. 평점법의 경우 시료간의 특성 차이를 알 수 있어 순위법의 단점을 보완할 수 있었음.

표 10-2. 평점법에 의한 평가결과표

n	항목	A	B	C	합계	항목	A	B	C	합계	항목	A	B	C	합계
1	overall acceptance	3	3	3	9	color	5	3	2	10	flavor	2	2	4	8
2		4	4	2	10		5	3	3	11		2	3	3	8
3		4	3	3	10		4	4	2	10		3	3	4	10
4		3	3	2	8		5	4	2	11		2	2	2	6
5		4	2	3	9		4	3	2	9		2	3	4	9
6		5	4	3	12		5	4	3	12		1	2	3	6
7		3	3	2	8		4	3	2	9		2	3	4	9
8		5	2	2	9		4	4	2	10		2	3	4	9
점수 합계		31	24	20	75	점수 합계	36	28	18	82	점수 합계	16	21	28	65
n	항목	A	B	C	합계	항목	A	B	C	합계	항목	A	B	C	합계
1	salt taste	5	3	3	11	sweet taste	2	2	3	7	bitter taste	1	2	3	6
2		4	4	3	11		1	3	3	7		1	3	4	8
3		5	4	3	12		2	2	3	7		2	2	4	8
4		4	4	3	11		1	2	2	5		1	3	4	8
5		4	5	4	13		1	2	3	6		1	2	3	6
6		4	4	4	12		1	3	3	7		2	2	4	8
7		5	3	3	11		2	3	2	7		1	2	4	7
8		4	3	4	11		1	2	2	5		1	3	4	8
점수 합계		35	30	27	92	점수 합계	11	19	21	51	점수 합계	10	19	30	59

표 10-3. 각 항목에 대한 분산분석표

종합적기호도에 대한 분산분석표					색에 대한 분산분석표					향에 대한 분산분석표							
수정계수(CF값)					234.38	수정계수(CF값)					280.17	수정계수(CF값)					176.04
변인	자유도	제곱합	평균제곱	F값 (분산비)	변인	자유도	제곱합	평균제곱	F값 (분산비)	변인	자유도	제곱합	평균제곱	F값 (분산비)			
처리(시료)	2	7.75	3.88	7.84	처리(시료)	2	20.33	10.17	47.44	처리(시료)	2	9.08	4.54	21.80			
패널	7	3.96	0.57	1.14	패널	7	2.50	0.36	1.67	패널	7	4.96	0.71	3.40			
오차	14	6.92	0.49		오차	14	3.00	0.21		오차	14	2.92	0.21				
총계	23	18.63			총계	23	25.83			총계	23	16.96					
짠맛에 대한 분산분석표					단맛에 대한 분산분석표					쓴맛에 대한 분산분석표							
수정계수(CF값)					352.67	수정계수(CF값)					108.38	수정계수(CF값)					145.04
변인	자유도	제곱합	평균제곱	F값 (분산비)	변인	자유도	제곱합	평균제곱	F값 (분산비)	변인	자유도	제곱합	평균제곱	F값 (분산비)			
처리(시료)	2	4.08	2.04	4.83	처리(시료)	2	7	3.5	13.36	처리(시료)	2	25.08	12.54	60.2			
패널	7	1.33	0.19	0.45	패널	7	1.96	0.28	1.07	패널	7	1.96	0.28	1.34			
오차	14	5.92	0.42		오차	14	3.67	0.26		오차	14	2.92	0.21				
총계	23	11.33			총계	23	12.63			총계	23	29.96					

(시료의 자유도(V1):2, 오차의 자유도(V2):14, 유의도 a값:5% 0.05, Fv1,v2,a:3.74)

다. 묘사분석- 정량묘사분석

- 정량묘사분석 결과 표1-4와 그림1과 같이 나타남. 정량묘사분석의 경우 패널들이 맛, 향, 색등의 상호작용적으로 평가하기 때문에 식물성 소금대체제의 관능평가 결과에 따라 수정·보완점을 파악하여 기호성을 개선할 수 있어 가장 적절한 방법으로 판단됨.

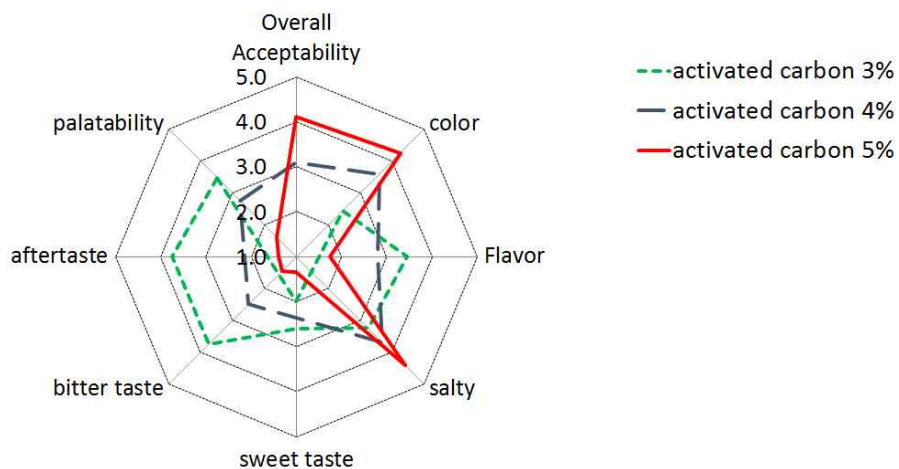


그림 10-1. 활성탄 처리에 따른 관능적 특성을 나타낸 거미줄 그래프

표 10-3. 묘사분석 평가표

n	category	A	B	C	category	A	B	C	category	A	B	C		
1	overall acceptance	3	3	3	color	5	3	2	flavor	2	2	4		
2		4	4	2		5	3	3		2	3	3	3	
3		4	3	3		4	4	2		3	4	3	4	
4		3	3	2		5	4	2		2	2	2	2	
5		4	2	3		4	3	2		4	3	4	4	
6		5	4	3		5	4	3		1	2	3	3	
7		3	3	2		4	3	2		2	3	4	4	
8		5	2	2		4	4	2		2	3	4	4	
9		4	3	2		4	4	3		3	1	3	4	
10		3	4	1		5	3	2		2	2	3	3	
11		5	3	3		5	3	1		1	2	4	4	
12		4	4	2		4	5	3		3	1	3	3	
13		5	2	3		3	4	2		2	1	2	2	
14		4	3	2		3	3	3		3	2	3	3	
15		5	4	2		4	3	2		2	3	3	4	
16		3	4	2		5	4	3		3	2	3	3	
17		4	3	1		3	4	3		3	1	4	4	
18		5	3	2		4	3	3		3	2	3	4	
19		4	2	3		5	4	3		3	2	3	4	
20		5	3	2		4	4	3		3	1	3	3	
Average		4.1	3.1	2.2 5	Average		4.25	3.6	2.45	Average		1.75	2.8	3.45
n	category	A	B	C	category	A	B	C	category	A	B	C		
1	salt taste	5	3	3	sweet taste	2	2	3	bitter taste	1	2	3		
2		4	4	3		1	3	3		1	3	4		
3		5	4	3		2	2	3		2	2	4		
4		4	4	3		1	2	2		1	3	4		
5		4	5	4		1	2	3		1	2	3		
6		4	4	4		1	3	3		2	2	4		
7		5	3	3		2	3	2		1	2	4		
8		4	3	4		1	2	2		1	3	4		
9		5	4	4		2	2	2		2	2	3	4	
10		4	4	3		1	2	3		1	2	3	4	
11		5	3	3		2	3	3		2	3	4		
12		5	3	3		1	2	2		2	2	2	3	
13		5	5	3		2	3	3		2	2	2	2	
14		4	4	3		1	3	2		1	3	4		
15		5	4	3		2	2	3		1	2	4		
16		4	3	4		1	2	3		2	3	3		
17		4	4	3		1	2	3		1	3	2		
18		3	3	3		1	2	2		2	3	4		
19		5	4	3		1	2	3		1	2	3		
20		4	3	3		1	3	2		2	3	4		
Average		4.4	3.7	3.2 5	Average		1.35	2.35	2.6	Average		1.45	2.5	3.75
n	category	A	B	C	category	A	B	C						
1	aftertaste	1	2	3	palatability	1	3	3						
2		2	3	4		2	3	4						
3		2	2	3		2	2	4						
4		1	1	4		1	3	3						
5		1	3	5		2	3	4						
6		2	2	4		1	3	3						
7		1	2	4		2	3	3						
8		2	2	4		2	3	3						
9		1	2	4		2	3	3						
10		2	3	5		1	2	4						
11		1	2	4		2	3	4						
12		1	1	4		2	3	3						
13		1	2	3		2	2	4						
14		1	3	4		1	3	4						
15		1	2	4		1	3	3						
16		2	2	4		2	2	3						
17		1	2	3		1	3	3						
18		1	2	3		2	3	4						
19		2	3	4		1	2	3						
20		2	2	4		2	3	4						
Average		1.4	2.1 5	3.8 5	Average		1.6	2.75	3.47					

11. 글로벌 식품회사와의 공동연구 및 수출상품화

가. 통통마디 가수분해물의 발효를 통해 글로벌 식품회사가 주문하는 맛을 내는 고부가가치 식물성 소금대체재 개발 및 수출 상품화

○ 본 연구를 통해 개발된 파이토솔트를 샘플테스트한 글로벌 식품사에서 감칠맛이 더 함유된 파이토솔트를 주문함. 이에 파이토솔트의 감칠맛을 증가시키고자 식품의 감칠맛에 대표적 성분인 glutamic acid의 양을 더 함유하게 하고자 함. Glutamic acid 생성균주 중 가장 안전하게 사용되어 온 *Corynebacterium glutamicum*을 발효균주로 정하였으며 오리지널 균주인 1445에서 glutamic acid 생성량을 늘리기 위해 자연 mutation시킨 1448 균주를 이용함. 통통마디 마쇄액(30% w/v)은 cellulase로 처리하여 가수분해하여 마련함. 가수분해를 통해 생성된 환원당은 약 3.5%로 미생물을 배양하여 발효하기에 적절하였음. 외부로부터 당원 등을 첨가하지 않는 방식으로 통통마디 자체가 가지고 있는 다량의 cellulose를 분해시켜 glucose를 얻고 이를 이용한 발효를 목표로 하였음. 이때 *C. glutamicum*은 glutamic acid를 생성하기 위해 반드시 질소원을 영양원으로 필요로 하며 Biotin 요구성을 가지고 있기 때문에 질소원으로 최소량의 urea와 biotin을 첨가하였음. 발효 60시간에서 glutamic acid의 최대 생성을 확인하였으며, 이때 발효를 종료하고 경서 열수추출기를 이용하여 발효액 전체를 열수추출 하였음.

○ 열수추출액은 농축기로 농축하여 염도 약 16~18%로 하였고, 활성탄을 4% 처리하여 이 미취를 없애는 정제공정을 거쳐 감칠맛이 증가된 발효농축액을 얻음.

○ 이는 분무건조기를 이용하여 분무건조(outlet temp. 92°C, blower 0.38~0.4)하여 추가의 수분을 건조기에서 제거한 후 발효 파이토솔트('PhytoSalt-F')로 제작하였음. 제작된 발효 파이토솔트는 10% 염용액 기준으로 glutamic acid 0.1 mg/ml에서 1.2 mg/ml 수준으로 약 12배 감칠맛의 지표성분인 glutamic acid가 증가했음을 glutamic acid assay kit 및 HPLC로 확인함.

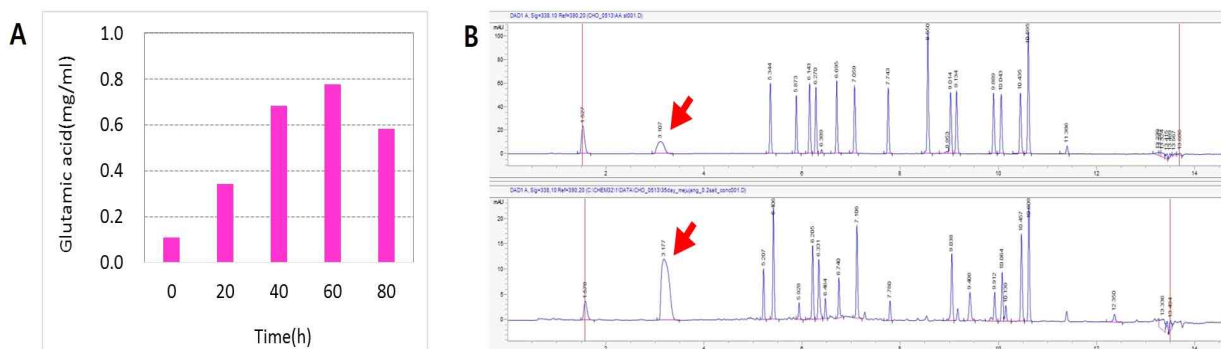


그림 11-1. *Corynebacterium glutamicum*의 glutamic acid 발효 최적 시간 및 발효산물의 HPLC 분석

나. 수출 및 판매를 위한 최적 포장 개발

○ 열수 추출물을 분무건조하여 분말화 된 소금은 그대로 B2B용 제품으로, 과립화 과정을 거친 소금은 B2C용 제품으로 개발함. B2B용 제품은 알루미늄 파우치로 대형포장하여 1kg, 3kg, 10kg, 20kg 중량으로 각각 만들었음. B2C용 제품은 table salt type으로 50g, 100g의 내용량을 유리병에 포장하였음.



그림 11-1. 파이토솔트 B2B, B2C용 100g 유리병 제품, 및 1kg, 3kg, 10kg 파우치 제품 사진

12. 기능성이 강화된 소금대체제 개발

가. 에탄올 추출 등의 유기용매 추출법을 이용한 통통마디의 기능성 물질 추출

(1) 에탄올 추출물 및 유기용매 분획물의 조제 및 총폴리페놀 및 총플라보노이드 함량 비교 평가

○ 통통마디 열수추출 소금의 기능성을 강화하고자 그림 12-1의 방법으로 통통마디 전초 분말로부터 수득된 에탄올 추출물(SEPE), 에탄올 추출물의 헥산 분획물(SEPE-H), 클로로포름 분획물 (SEPE-C), 에틸아세테이트 분획물 (SEPE-EA), 부탄올 분획물 (SEPE-B)을 수득한후, 각각의 시료를 100-500 μ g/ml의 농도로 조제한 후, 통통마디 열수추출물과 함께 식물 기능성 성분의 주요 화합물들인 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정하여 표 에 나타내었음. 총 폴리페놀의 함량은 에틸아세테이트 분획물 (SEPE-EA)>부탄올분획물(SEPE-B)>에탄올추출물(SEPE)>클로로포름분획물 (SEPE-C)>열수추출물(SEW)>물 잔류물SEPE-Q) 순으로 함유되어 있었으며, 총플라보노이드의 함량도 폴리페놀 함량과 동일한 순서로 에틸아세테이트 분획물(SEPE-EA)>부탄올분획물(SEPE-B)>에탄올추출물(SEPE)>클로로포름분획물(SEPE-C)>열수추출물 (SEW)>물잔류물SEPE-Q) 순으로 측정되어, 에틸아세테이트 분획물에서 기능성 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 가장 높게 함유되어 있음을 알수 있었음. 또한, 통통마디 열

수추출물보다 에탄올 추출물에서 기능성 화합물이 더 많이 함유되어 있는 것으로 나타났다.

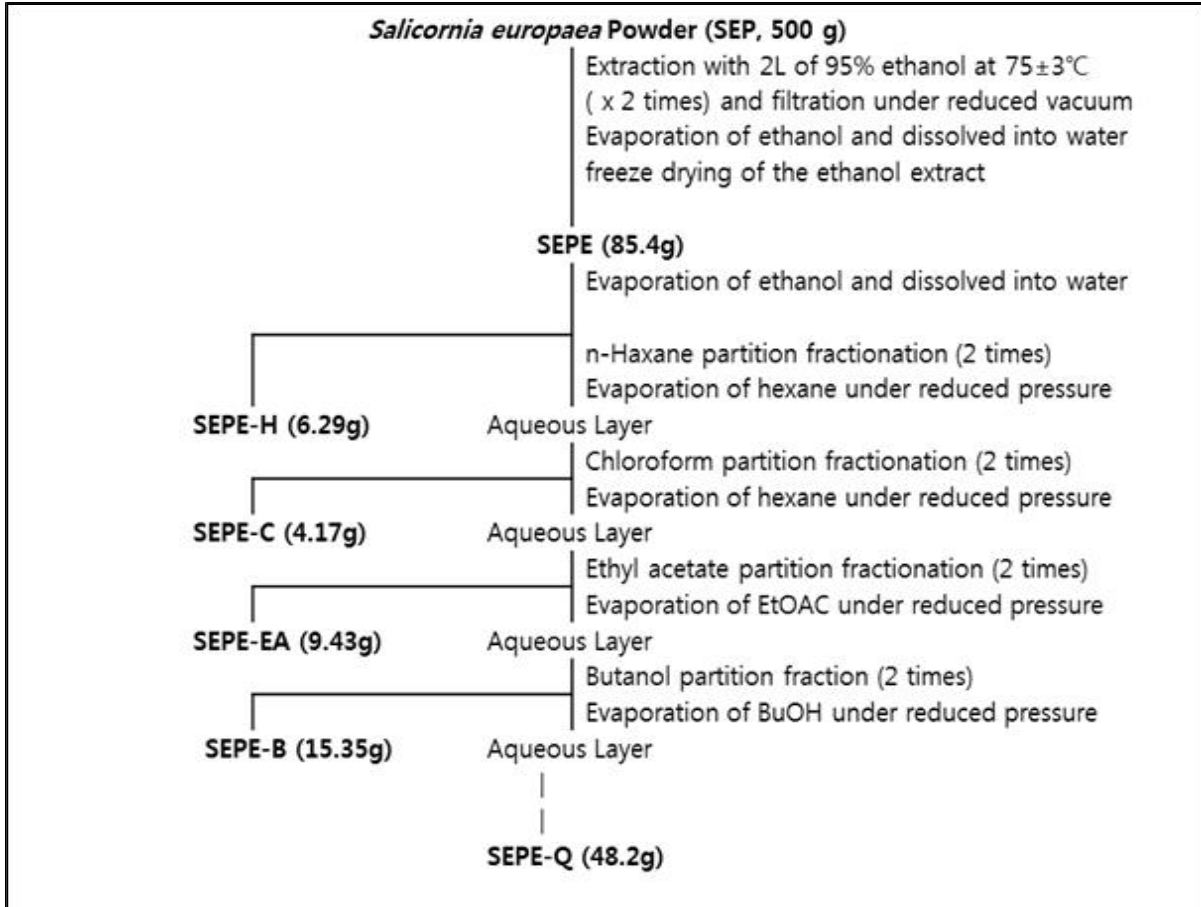


그림 12-1. 통통마디 전초 분말의 95% 에탄올 환류 및 유기용매 분획 도식도

표 12-1. 에탄올 추출물 및 유기용매 분획물의 총폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석

Sample	SEW	SEPE	SEPE-H	SEPE-C	SEPE-EA	SEPE-B	SEPE-Q	SEWR-AE
Yield (g)	954	85.4	6.29	4.17	9.43	9.43	48.2	18.6
Total Polyphenol (mg%)	8.5	13.8	2.4	14.2	26.13	23.8	3.5	20.4
Total Flavonoids (mg%)	4.2	9.4	1.1	10.0	18.94	15.7	1.8	13.2

나. 통통마디 전초 및 열수추출박의 에탄올 추출물 및 유기용매 분획물의 기능성 평가

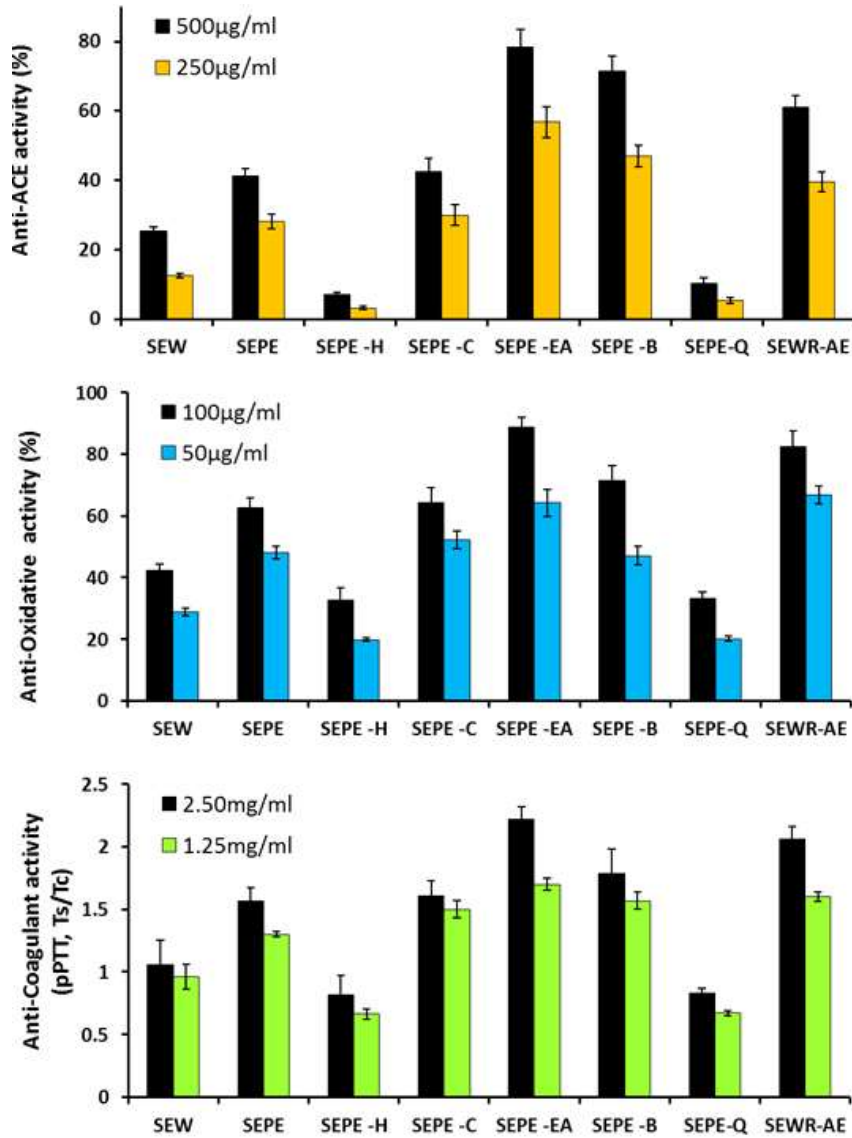


그림 12-2. 통통마디 추출물 및 열수추출박의 에탄올 추출물의 기능성 비교 평가

○ 통통마디 전초 에탄올 환류 추출물, 및 에탄올 환류 추출물의 유기용매 분획물들의 기능성을 비교하기 위하여 동결건조된 시료들을 농도를 달리하여 항고혈압 활성의 근간이 되는 안지오텐신 I 전환효소를 억제하는 ACE 저해활성(anti-ACE activity)과 항산화활성(anti-oxidative activity) 및 혈액응고활성(anti-coagulant activity)을 비교 측정하였음. 표 1의 결과에서 나타난 바와같츠 모든 기능성에서 통통마디 열수추출물보다 에탄올 추출물에서 활성이 강함을 확인할 수 있었는데, 이는 시료내 함유되어 있는 기능성 폴리페놀과 플라보노이드 함량과 상관성이 있음을 알 수 있었음. 또한, 에탄올 추출물의 유기용매 분획물 중 특히 에틸아세테이트 획분(SEPE-EA)획분이 모든 기능성에서 가장 강력한 활성을 나타내었으며, 통통마디 열수추출박의 알칼리 가수분해 후 에탄올 추출한 분획물(SEWR-AE)에서는 상당한 기능성을 확인할 수 있었는데, 이들 분획물 중에 함유되어 있는 풍부한 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량과 관련이 있음을 알 수 있었음.

다. 통통마디 추출물 또는 발효물을 보강한 기능성 파이토솔트 제조 및 기능성 평가

○ 표12-1, 그림12-2의 결과에서 통통마디 열수추출물보다 에탄올 추출물과 그 유기용매 분획물들, 특히 에틸아세테이트 획분 그리고 열수추출물의 알칼리가수분해 및 에탄올 추출물에서 항고혈압활성, 항산화활성 및 항혈전활성이 우수하였으므로, 통통마디 기능성 강화 소금대체재를 제조하고자, 통통마디 소금 95g과 통통마디 전초 에탄올 추출물 5g을 혼합하여 증류수 2L에 용해한 후 분무건조하여 수득된 기능성 강화 소금대체재 (SEW-E-salt), 통통마디 열수추출 소금 98g과 통통마디 에탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획물 2g을 혼합하여 증류수 2L에 용해한 후 분무건조하여 수득한 기능성 강화 소금대체재 (SEW-EA-salt), 통통마디 열수추출 소금 97g과 통통마디 추출박의 에탄올 추출물 3g을 혼합하여 증류수 2L에 용해한 후 분무건조하여 수득한 기능성 강화 소금대체재 (SEWR-E-salt)를 제조하여 각각의 기능성강화 소금내 함유되어 있는 총폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 비교 측정된 결과(표 2) 기능성이 강화된 3종의 소금에서 모두 증가된 폴리페놀과 플라보노이드의 양을 확인할 수 있었음. 또한 각각의 기능성 강화 소금에 대하여 ACE 저해활성, 항산화활성, 항혈전활성을 열수추출소금(SEW-salt)과 비교한 결과 열수추출소금 보다 기능성이 모두 증가하였으며, 특히 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 가장 풍부하게 함유되어 있는 통통마디 에탄올 환류추출물의 에틸아세테이트 획분이 강화된 SEW-EA-salt에서 가장 우수한 ACE 저해활성과 항산화활성을 확인할 수 있었으므로, 기능성강화 통통마디 소금대체재로 활용할 수 있을 것으로 사료됨.

표 12-2. 에탄올 추출물 및 유기용매 분획물의 총폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석

Sample	SEW-salt	SEW-E-salt	SEW-EA-sakt	SEWR-E-salt
Yield (g)	92.4	91.8	91.0	92.1
Total Polyphenol (mg%)	8.9	12.6	13.8	12.7
Total Flavonoids (mg%)	4.8	6.2	8.5	7.3

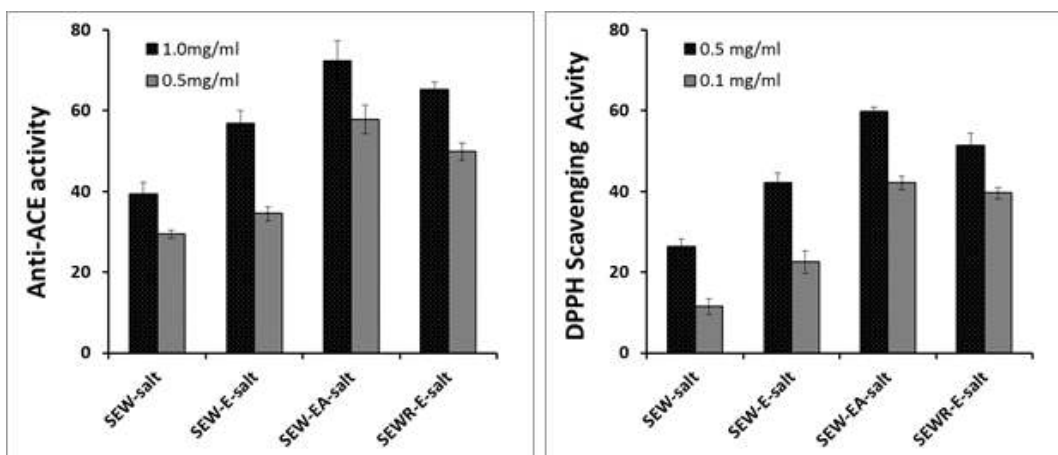


그림 12-3. 유기용매 추출물과 추출박의 에탄올 추출물을 보강한 통통마디 기능성소금의 기능성평가

13. 동물실험을 통한 건강 기능성 규명

가. 통통마디 발효-열수추출박의 체지방 감소 및 항비만 효과 전임상 동물실험 방법

○ *Corynebacterium glutamicum*을 이용하여 발효한 통통마디 발효물로부터 기능성 발효소금을 제조하고 남은 열수추출박을 활용하고자 성분분석을 실시한 결과 다량의 식이섬유와 단백질이 함유되어 있음을 확인하였다. 따라서, 통통마디 열수추출박을 열풍건조 후 분말화하여 비만억제 및 체지방 감소 효능을 검토하기 위하여 전임상 동물실험을 (주)노터스에 의뢰하여 실시하였음.

○ 시험물질, 양성대조물질, 부형제
전임상실험에 사용된 시료는 (주)파이토코퍼레이션에서 제조한 통통마디 발효 추출박 분말을 이용하였으며, 양성대조물질은 *Garcinia cambogia extract* (60 % HCA, Fusion Diet System) 를 사용하였고, 부형제로 멸균증류수(대한관류용멸균증류수, 대한약품공업)를 사용하였음.

○ 시험계

(1) 종 및 계통: 특정병원체 부재 (SPF) 랫드, Crlj:CD (SD)

생산자 및 공급원: 오리엔트바이오 (경기도 가평군 북면 목동리)

(2) 시험계의 선택 이유: 본 시험에 사용한 랫드는 각종 약효 및 독성시험에 널리 사용되고 있고, 풍부한 시험기초자료가 축적되어 있으며, 이러한 자료를 이용하여 시험결과의 해석 및 평가가 용이하기 때문에 선택하였음.

(3) 입수일: 2016 년 05 월 16 일

(4) 입수 시 성별, 주령 및 동물수: 수컷, 5 주령, 55 마리

(5) 입수 시 체중범위: 약 200 g ± 20 % 이내

(6) 검역 및 순화기간

입수 후 7 일 (순화기간 중 일반증상을 관찰하여 건강상태를 확인하였고 건강한 동물을 시험에 사용함.)

(7) 사용 동물수: 수컷 50 마리

(8) 식별: 동물은 순화기간 (청색), 투여 및 관찰기간 (붉은색) 동안 미부표식법을 사용하여 식별하였다. 사육상자에는 색으로 구별되는 개체식별가트를 부착하였고, 사육실 입구에는 동물실 사용기록지를 부착하였음.

○ 사육환경

(1) 환경조건: 본 시험은 온도 23±3 °C, 상대습도 55±15 %, 환기횟수 10~20 회/hr, 조명시간 12 시간 (오전 8 시 점등~오후 8 시 소등) 및 조도 150~300 Lux로 설정한 주식회사 노터스 설치류 사육구역 2 호실에서 실시하였음.

(2) 사육환경 모니터링: 사육기간 중 동물실의 온습도는 환기횟수 및 조도 등의 환경조건은 정기적으로 측정하였다. 환경측정 결과 시험의 결과에 나쁜 영향을 끼칠만한 이상

은 관찰되지 않았음.

- (3) 사료, 물 및 깔개: 사료는 (주)카길애그리퓨리나에서 생산하는 실험동물용 사료를 드림 바이오 (서울특별시 광진구 광나루로 507)로부터 공급받아 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 물은 정수된 물을 폴리카보네이트제 음수병을 이용하여 자유롭게 섭취하도록 하였다. 깔개는 나무깔개를 (주)코아텍 (경기도 평택시 진위면 동천리 406)로부터 공급받아 사용하였음.
- (4) 사육상자 및 사육밀도: 순화 기간 및 실험 기간 동안 설치류용 폴리카보네이트 사육상자 (W 235 x L 380 x H 175 mm)에서 5 마리/사육상자 이하로 사육하였음.
- (5) 사육관리: 사육상자는 매일 청소하였으며, 물병은 매일 교환하였음.
- (6) 군분리: 순화기간 중 건강한 것으로 판정된 동물들의 체중을 측정하였고 순위화한 체중에 따라 각 군의 평균체중이 최대한 균일하게 분포하도록 무작위법으로 분배하였음.

○ 시험군의 구성 및 투여량 설정

(1) 시험군의 구성

군	성별	동물수 (마리)	동물번호	비만유도여부	투여물질	투여량 (mg/kg)	투여액량 (mL/kg)
G1	M	10	1-10	N			
G2	M	10	11-20	Y		-	10
G3	M	10	21-30	Y	시험물질	250	10
G4	M	10	31-40	Y	시험물질	500	10
G5	M	10	41-50	Y	양성대조물질	200	10

G1: 정상대조군, G5: 양성대조군

- (2) 투여량의 설정: 양성대조군이 추출물인데 비하여 시험물질을 식물 분말임을 감안하여 두 농도로 선택함.

○ 투여시험물질의 조제 및 투여

적량의 시험물질을 칭량한 다음, 부형제로 희석하여 조제하였으며, 경구투여를 선택하였으며, 투여횟수는 1회/일, 12 주간 투여하며, 16:00 이전에 투여하는 것을 원칙으로 하였음. 또한 투여액량의 산출은 최근 체중측정일에 측정된 체중을 기준으로 10 mL/kg으로 산출하여 투여하였다. 투여방법은 동물을 경배부 피부 고정법으로 고정하고, 경구투여용 존데를 이용하여 위 내에 직접 투여하였다. 고지방사료 급여는 DYET에서 생산하는 실험동물용 고지방식이 (60 % HFD)를 12 주 동안 자유롭게 섭취하도록 하였음.

○ 관찰 및 검사 항목

- (1) 체중은 군분리 또는 시험물질 투여개시일, 그 이후에는 주 1 회 및 부검일에 측정하였음.

- (2) 사료섭취량은 시험물질 투여개시일, 그 이후에는 주 1 회 측정하였다. 측정방법은 사료를 정량급여한 다음 날 잔량을 사육상자 단위로 측정하여 그 차이를 계산하고, 마리당 평균섭취량으로 산출하였음.
- (3) 혈액생화학적 검사는 비만 유발 후 8 주 및 12 주째에 모든 동물의 경정맥으로부터 약 1 mL의 혈액을 채취한 뒤, clot activator가 들어 있는 vacutainer tube에 주입하고, 약 15-20 분간 실온에 방치하여 응고시킨 후, 3,000 rpm으로 10 분간 원심분리하여 얻은 혈청으로 혈액생화학분석기 (7020 Hitachi, Japan)를 이용하여 아래 항목을 검사하였음. 검사항목은 Alanine transaminase (ALT), Aspartate transaminase (AST), Total cholesterol (TCHO), Triglyceride (TG), High density lipoprotein (HDL), Low density lipoprotein (LDL)이었음.
- (4) Micro-CT 촬영은 비만 유발 후 8 주 및 12 주째 (부검 전)에 모든 동물의 복부지방량을 측정하기 위하여 Micro-CT (vivaCT 80, SCANCO Medical, Switzerland) 촬영을 실시하였다. 복부 지방의 측정 부위는 2 번째 요추 기시부로부터 5 번째 요추 중 지부까지의 공간에 존재하는 복부 지방 (L2-L5)으로 설정하여 분석하였음.
- (5) 부검, 장기중량 측정 및 장기 고정은 부검일에 동물을 ether로 흡입마취하고, 마취가 확인되면 복대동맥 및 후대정맥을 절단하여 방혈/치사시킨 후, 간 및 신장을 적출하였다. 적출된 간 및 신장은 전자저울을 이용하여 장기중량을 측정한 다음, 10 % 중성완충포르말린용액에 고정하였음.

○ 통계학적 분석

본 시험의 결과에 대하여 자료의 정규성을 가정하고 모수적인 일원분산분석 (One-way ANOVA)을 적용하였다. 분산의 동질성은 Levene test로 검정하였음.

ANOVA 결과가 유의하며 등분산인 경우 Duncan multiple range test로, 이분산인 경우는 Dunnett T3 test로 사후검정을 실시하여 시험군간 유의한 차이를 확인하였음.

통계학적 분석은 상용으로 널리 사용되는 통계 패키지인 SPSS Statistics 18.0 K를 이용하였으며, p값이 0.05 미만일 경우, 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였음.

나. 고지방식이로 유도된 Sprague-Dawley rat 비만모델에서의 시험물질의 효능평가

(1) 연구배경

현대인들의 과도한 영양섭취로 인한 비만은 심각한 사회경제적인 건강 문제 중 하나로써 대두되고 있으며, 비만은 에너지의 과잉섭취, 유전적 감수성 및 육체적 활동성 감소 등으로 인한 에너지의 불균형으로 체조직에 지방이 과도하게 축적되어 나타나는 것으로 지난 수세기동안 주로 선진국에서 그 유병율이 꾸준히 증가해왔으나, 최근 국내에서도 비만인구가 급격히 증가하고 있음. 또한 비만은 심혈관계 질환, 당뇨, 비알코올성 간염, 암, 치매, 골관절염 등과 같은 대사성 질환들을 유발시키는 원인으로 알려져 있으므로 비만은 심각한 현대인의 질병으로 분류되고 있음. 또한 비만은 세포내 산화적 스트레스를 일으켜 지방조직에서 adipocytokine들의 분비 장애를 초래하여 동맥경화와 당뇨 등과 같은 대사

증후군과 허혈성심질환 등도 초래하는 것으로 알려져 있음. 이러한 비만의 예방과 치료를 수단으로는 음식섭취감소와 운동과 같은 생활 습관을 고치는 방법이 있고, 영양소 흡수의 억제, thermogenesis 증가, 지방 또는 단백질 대사의 조절을 하는 인위적인 방법이 존재한다. 현재 연구자들은 비만의 개선을 위하여 지방세포 분화의 감소, lipogenesis 감소, lipolysis 증가와 지방세포의 세포사멸을 유도하는 등의 다양한 연구가 진행되고 있음. 따라서 통통마디의 발효 추출물로부터 기능성 발효소균을 제조하고 남게되는 부산물인 추출박에서 식이섬유와 파이토케미컬이 풍부함을 확인하고, 통통마디 발효-열수추출박 분말을 활용하고자 함. 따라서, 식이섬유가 풍부한 통통마디-열수추출박 분말의 체지방 감소 및 항비만 효능을 검토하고자 고지방식이로 유도된 Sprague-Dawley rat 비만모델에서 시험물질의 12 주 반복 투여가 미치는 영향을 평가하기 위하여 수행하였음 (G1: 정상대조군, G2: 유발대조군, G3: 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군, G4: 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군, G5: 양성대조군).

(2) 사료 섭취량 측정결과

시험물질 투여 후 1 주째에 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군은 정상대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났음 ($p < 0.05$). 시험물질 투여 후 2 주째에 유발대조군 및 시험물질 투여군 (G3-G4)은 정상대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.01$, $p < 0.05$ 및 $p < 0.05$). 시험물질 투여 후 3 주째에 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났음 ($p < 0.05$). 시험물질 투여 후 4 및 5 주째에 유발대조군 및 시험물질 투여군 (G3-G4)은 정상대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$). 시험물질 투여 후 6 주째에 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났음 ($p < 0.05$).

시험물질 투여 후 7 주째에 유발대조군, 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.05$). 시험물질 투여 후 10 주째에 유발대조군 및 시험물질 투여군 (G3-G4)은 정상대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났음 ($p < 0.05$). 시험물질 투여 후 11 주째에 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.01$). 시험물질 투여 후 12 주째에 유발대조군, 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났음 ($P < 0.05$)(표 13-1, 13-2).

표 13-1. 1주차 사료 섭취량

FOOD CONSUMPTIONS (UNIT: g)					
WEEK 1					
CAGE NO.	GROUP				
	G1	G2	G3	G4	G5
1	23.43	17.73	16.94	16.37	15.71
2	21.70	17.53	16.24	15.04	16.35
Mean	22.56	17.63	16.59	15.71	16.03
SD	1.22	0.14	0.50	0.94	0.45

The day of first treatment was designated as week 0.

Data were expressed as Mean±S.D.

G1: Normal control, G2: Vehicle control, G3: Test article 250 mg/kg, G4: Test article 500 mg/kg, G5: Positive control

표 13-2. 11주차 사료 섭취량

FOOD CONSUMPTIONS (UNIT: g)					
WEEK 11					
CAGE NO.	GROUP				
	G1	G2	G3	G4	G5
1	26.88	17.40	17.61	15.90	16.98
2	23.51	17.56	16.60	16.00	18.47
Mean	25.20	17.48	17.11	15.95	17.72
SD	2.39	0.11	0.71	0.07	1.05

The day of first treatment was designated as week 0.

Data were expressed as Mean±S.D.

G1: Normal control, G2: Vehicle control, G3: Test article 250 mg/kg, G4: Test article 500 mg/kg, G5: Positive control

(3) 체중

시험물질 투여 후 3 및 4 주째에 유발대조군의 체중 수준은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.05$). 시험물질 투여 후 5 주째에 유발대조군의 체중 수준은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군의 체중 수준은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.05$). 시험물질 투여 후 6 및 7 주째에 유발대조군 및 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군의 체중 수준은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군의 체중 수준은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.05$). 시험물질 투여 후 8, 9 및 10 주째에 유발대조군, 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군 및 양성대조군의 체중 수준은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군의 체중 수준은 유발대조군 대비 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.05$). 시험물질 투여 후 11 및 12 주째에 유발대조군, 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군 및 양성대조군의 체중 수준은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군 및 양성대조군의 체중 수준은 유발대조군 대비 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.01$ 및 $p < 0.05$)(그림 13-1).

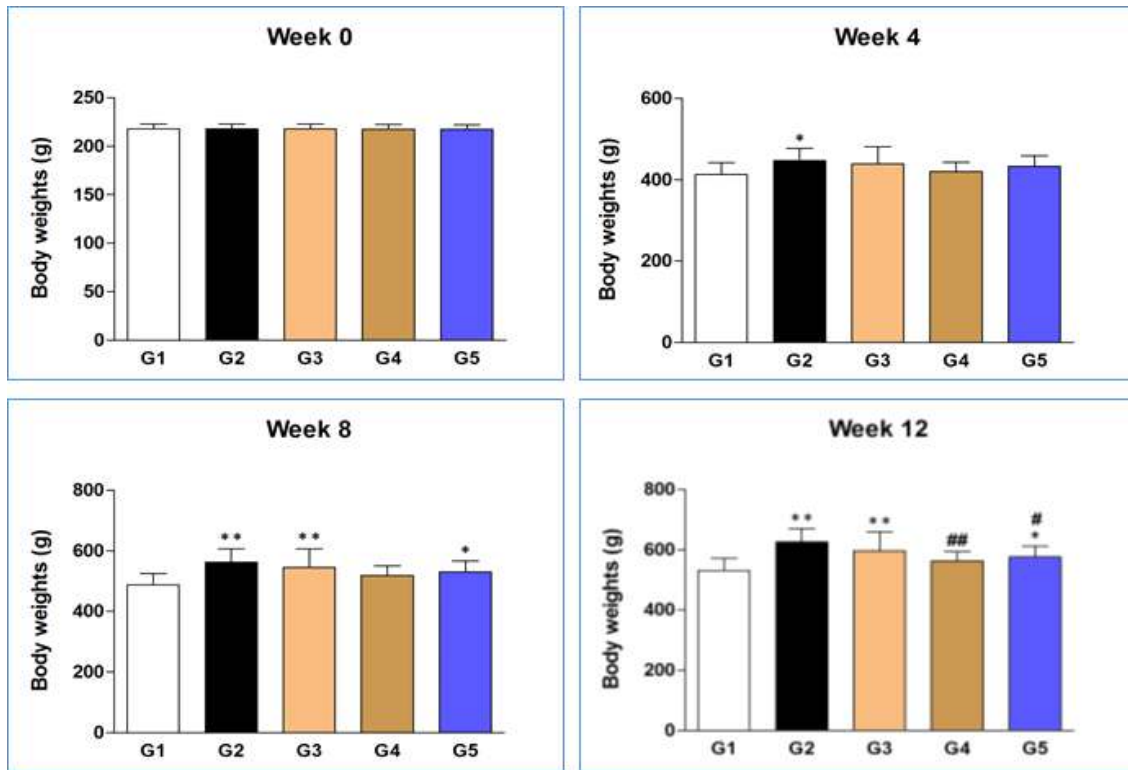


그림 13-1. 통통마디 발효-열수추출박 분말의 체중 감소효과

G1: Control, G2: High Fat Diet Group, G3: HFD + Low Dose SED-powder Group
 G4: HFD + High Dose SED-powder, G5: HFD + *Garcinia cambogia* Extract Group

(4) 혈액 생화학적 검사_체지방

시험물질 투여 후 8 주째에 AST 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.01$).

ALT 및 TCHO 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군 및 양성대조군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.01$ 및 $p < 0.05$).

TG 및 LDL 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 관찰되었다 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$). 시험물질 투여 후 12 주째에 AST 측정 결과, 유발대조군 및 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$ 및 $p < 0.05$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 ($p < 0.05$). ALT 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$), 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었으며 ($p < 0.05$, $p < 0.01$ 및

p<0.01), 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군은 양성대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났음 (p<0.05).

TCHO 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 관찰되었고 (p<0.01), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군 및 양성대조군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났다 (p<0.01 및 p<0.05).

TG 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 (p<0.01), 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었음 (p<0.05, p<0.01 및 p<0.01).

LDL 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났음 (p<0.01)(그림 13-2).

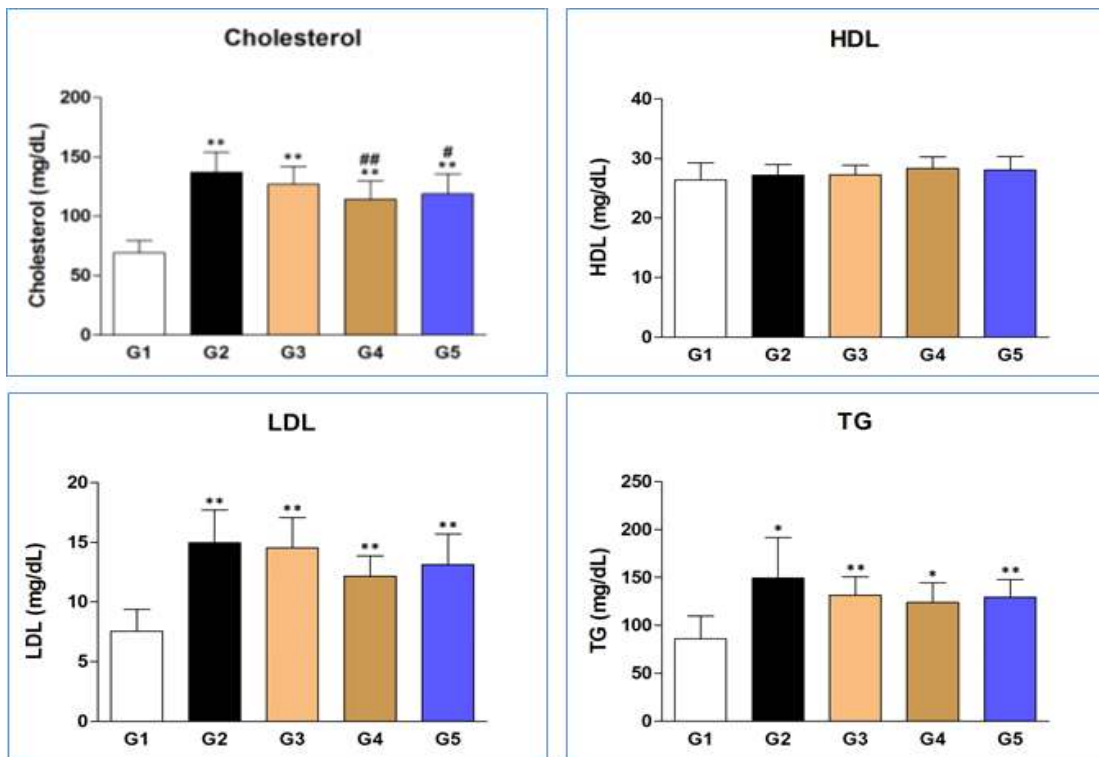


그림 13-2. 통통마디 발효-열수추출박 분말의 체지방 감소효과

G1: Control, G2: High Fat Diet Group, G3: HFD + Low Dose SED-powder Group
 G4: HFD + High Dose SED-powder, G5: HFD + *Garcinia cambogia* Extract Group

(5) Micro-CT 분석

시험물질 투여 후 8 주째에 전체 지방 부피 (total fat volume) 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 관찰되었고 (p<0.01), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났다 (p<0.05). 복부지방 부피 (abdominal fat volume) 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은

것으로 관찰되었다 ($p < 0.01$). 피하지방 부피 (subcutaneous fat volume) 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군 및 양성대조군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났으며 ($p < 0.01$), 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군은 양성대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 관찰되었다 ($p < 0.05$). 시험물질 투여 후 12 주째에 전체 지방 부피 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군 및 양성대조군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었다 ($p < 0.05$). 복부지방 부피 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었다 ($p < 0.05$). 피하지방 부피 측정 결과 유발대조군 및 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p < 0.01$ 및 $p < 0.05$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군 및 양성대조군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었다 ($p < 0.05$)(그림 13-3).

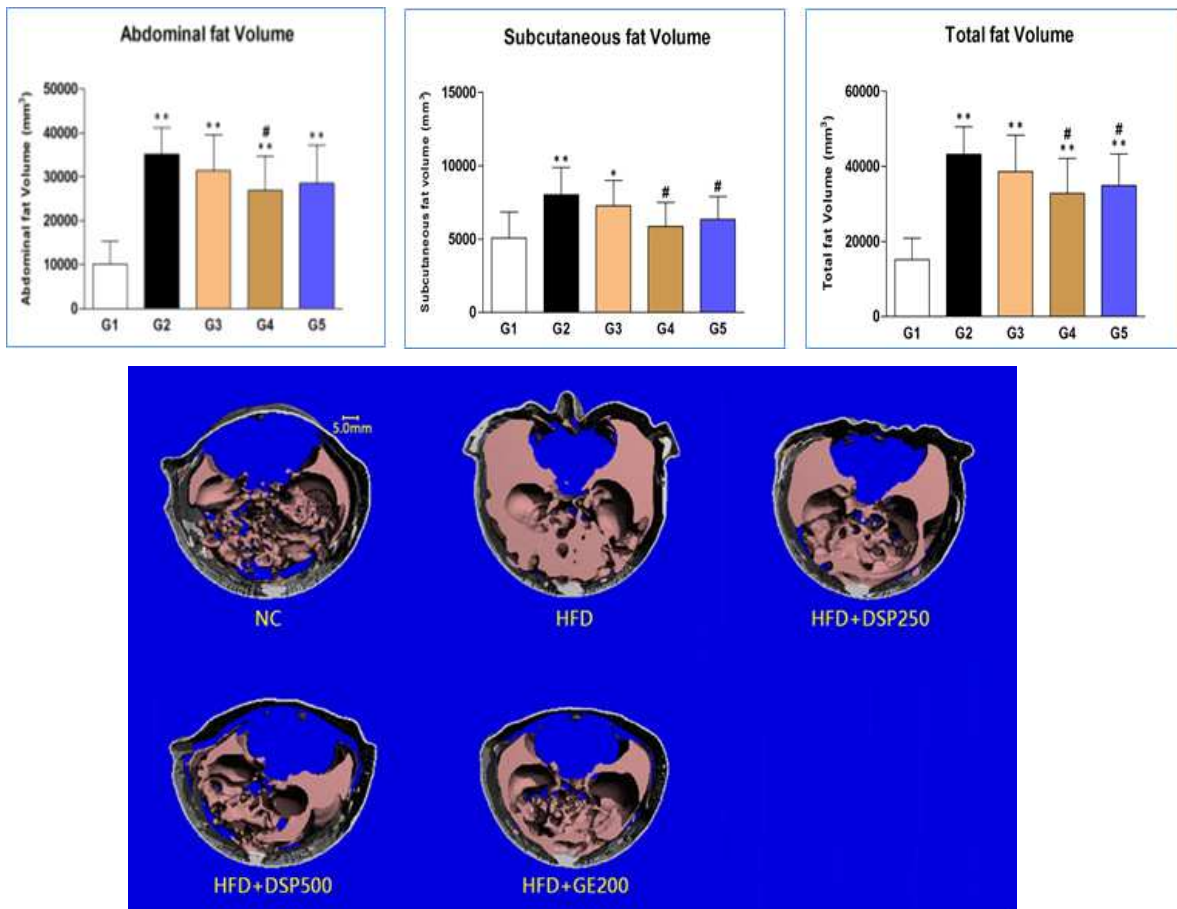


그림 13-3. 통통마디 발효-열수추출박 분말의 복부지방 및 피하지방 감소효과

G1: Control, G2: High Fat Diet Group, G3: HFD + Low Dose SED-powder Group
 G4: HFD + High Dose SED-powder, G5: HFD + *Garcinia cambogia* Extract Group

(6) 장기중량 측정

간 (Liver) 상대중량 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 250 mg/kg 투여군 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났고 ($p<0.01$, $p<0.05$ 및 $p<0.05$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군 및 양성대조군은 유발대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 관찰되었다 ($p<0.05$). 좌측 신장 (Kidney) 절대중량 측정 결과, 유발대조군 및 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났고 ($p<0.05$), 상대중량 측정 결과, 유발대조군, 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었으며 ($p<0.01$ 또는 $p<0.05$), 시험물질 투여군 (G3-G4) 및 양성대조군은 유발대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났다 ($p<0.01$). 우측 신장 절대중량 측정 결과, 유발대조군은 정상대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 관찰되었고 ($p<0.01$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났음 ($p<0.05$). 상대중량 측정 결과, 유발대조군 및 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군은 정상대조군에 비하여 유의하게 낮은 것으로 관찰되었고 ($p<0.01$ 및 $p<0.05$), 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군 및 양성대조군은 유발대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났음 ($p<0.05$)(그림 13-4).

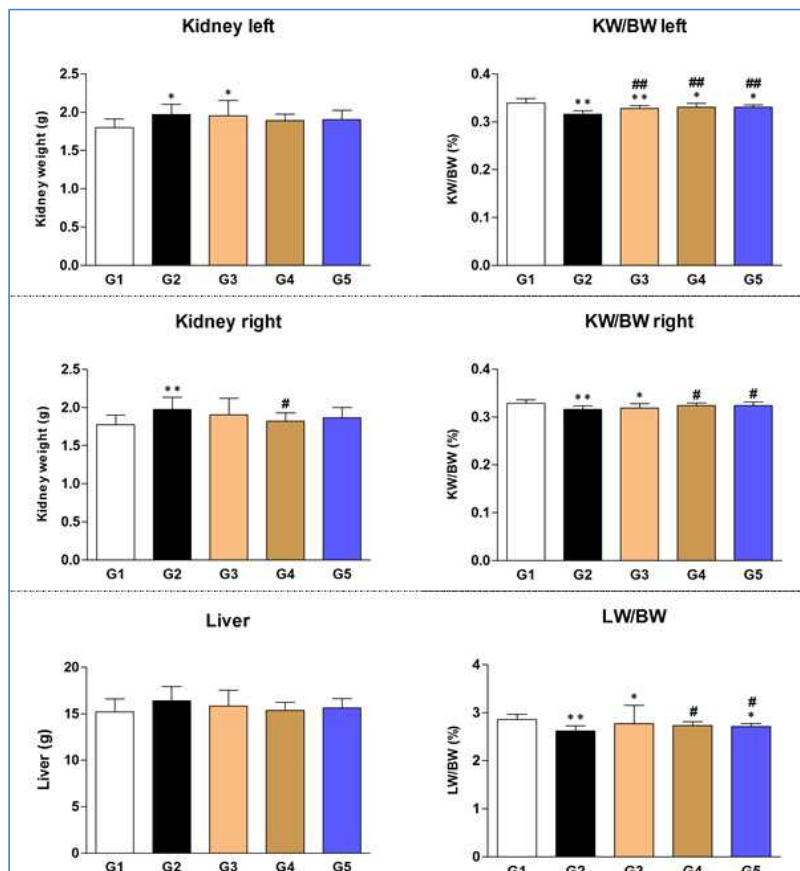


그림 13-4. 시험군의 장기중량 변화

(7) 고찰

본 동물실험은 고지방식으로 유도된 Sprague-Dawley rat 비만모델에서 시험물질의 12주 반복 투여가 미치는 영향을 평가하기 위하여 수행하였음 (G1: 정상대조군, G2: 유발대

조군, G3: 시험물질 저용량 250 mg/kg 투여군, G4: 시험물질 고용량 500 mg/kg 투여군, G5: 양성대조군). 체중 측정 결과, 시험물질 투여 후 5 주째부터 실험 종료시까지 시험물질 고용량 투여군의 체중 수준은 유발대조군에 비하여 통계학적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, 양성대조군 대비 유의한 차이를 나타내지는 않았으나, 시험물질 투여개시 후 5 주째부터 실험 종료시까지 양성대조군의 평균 체중에 비하여 상대적으로 낮은 수준을 유지하였다. 따라서 시험물질 고용량은 양성대조물질보다 고지방식이에 의한 체중 증가를 효과적으로 억제할 수 있는 것으로 사료된다. 사료섭취량 측정 결과, 시험물질 투여 후 1 주째부터 모든 시험물질 투여군의 사료섭취량 수준은 유발대조군에 비하여 낮은 수준을 나타내었고, 시험물질 투여 후 11 주째에 시험물질 고용량 투여군의 사료 섭취량 수준은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 수준을 나타내었음.

혈액생화학적 검사 결과, 시험물질 투여 후 8 주째에 AST, ALT 및 TCHO 항목에서 시험물질 고용량 투여군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 수준을 나타내었고, 시험물질 투여 후 12 주째에 AST 및 TCHO 항목에서 시험물질 고용량 투여군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 수준을 나타내었다. ALT 및 TG 항목에서 모든 시험물질 투여군은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮은 수준을 나타내었고, 용량 상관성 있는 변화 경향을 보였음.

Micro-CT 분석 결과, 시험물질 투여 후 8 및 12 주째에 시험물질 고용량 투여군의 전체 지방 부피 (total fat volume) 및 피하지방 부피 (subcutaneous fat volume) 수준은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮았고, 시험물질 투여 후 12 주째에 시험물질 고용량 투여군의 복부지방 부피 (abdominal fat volume) 수준은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮았음. 장기중량 측정 결과, 시험물질 고용량 투여군의 간 (liver) 및 신장 (kidney) 상대중량은 유발대조군에 비하여 유의하게 높았고, 우측 신장 절대중량은 유발대조군에 비하여 유의하게 낮았다. 이러한 변화는 시험물질 고용량 투여군의 체중이 유발대조군 대비 유의하게 낮았기 때문에 나타난 것으로 사료되며, 시험물질 고용량 투여군의 장기중량은 정상대조군과 유사한 경향을 보인 것으로 사료됨.

결론적으로 본 시험조건하에서 고지방식으로 유도된 Sprague-Dawley rat 비만모델에 시험물질을 12 주간 반복 투여하였을 때, 시험물질 고용량 투여군의 체중은 유발대조군 대비 유의하게 감소하였고, 양성대조군에 비하여 체중 증가를 억제하는 경향을 보였으며, 혈액생화학적 검사 결과, 시험물질 고용량 투여군의 AST, ALT, TCHO 및 TG 수준은 유발대조군 대비 유의한 변화가 관찰되었음. 또한, 시험물질 고용량 투여군의 전체 지방 부피, 복부지방 및 피하지방 부피 수준은 유발대조군 대비 유의하게 감소하였으며, 체중, 혈액생화학적 검사 및 Micro-CT 분석 결과 모두에서 용량 상관성 있는 변화 경향을 나타내었음.

따라서, 고지방식으로 유도된 Sprague-Dawley rat 비만모델에 대하여 시험물질은 항비만 효력을 갖는 것으로 판단되며, 시험물질의 항비만 효력은 본 시험에서 사용된 양성대조물질인 *Garcinia cambogia extract*과 동등하거나 동등 이상인 것으로 사료됨.

제 3절 연구개발 성과

코드번호

D-05

○ 특허성과

1. 관능성 및 기능성이 강화된 통통마디 유래의 염미 소스 및 그 제조 방법 (출원번호: 10-2015-0154424)
2. 염생식물 유래의 탈염 및 기능성이 강화된 영양 조성물과 그 제조방법 (출원번호: 10-2016-0055486)
3. 안지오텐신 전환효소 저해활성을 갖는 통통마디 유래의 5-deoxy-irilin B 및 이를 함유하는 조성물 (출원번호: 10-2016-0145862)

○ 논문게재 성과

1. Nisha Panth Sin-Hee Park, Hyun Jung Kim, Deuk-Hoi Kim and Min-Ho Oak. 2016. Protective Effect of Salicornia europaea Extracts on High Salt Intake-Induced Vascular Dysfunction and Hypertension. *International Journal of Molecular Sciences* 17:1176(1-13) (SCI 저널 게재: IF 3.257)
2. Md. Mahbubur Rahman, Myung-Jin Kim², Jin-Hyoung Kim Sok-Ho Kim, Hyeon-Kyu Go, Mee-Hyang Kwoen, Eun-Ah Cho and Do-Hyung Kim. 2016. Desalted Salicornia europaea powder lowers body fat and controls obesity by suppressing adipogenic related factors. *Journal of Science of the Food and Agriculture* (SCI 저널 투고 중: IF 2.076)

○ 시제품개발 성과

1. PhytoSalt : 통통마디 열수추출 후 활성탄 4%로 정제하여 분무건조한 미세분말 타입 제품
2. PhytoSalt-S : 씨즈닝 성분을 강화한 파이토솔트 씨즈닝 제품
3. Phytosalt-G serie : 파이토솔트의 과립 형태 제품
(G100 : 과립 사이즈 100 μ m, G500 : 과립 사이즈 500 μ m, G1000 : 과립사이즈 1mm)
4. Phytosalt-F : 발효하여 감칠맛을 올린 파이토솔트

○ 사업화성과 및 매출 실적
- 사업화 성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	-
			향후 3년간 매출	2 억원
		관련제품	개발후 현재까지	-
			향후 3년간 매출	1 억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : - 국외 : -
			향후 3년간 매출	국내 : 0.5 % 국외 : 0.5 %
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : - 국외 : -
			향후 3년간 매출	국내 : 0.5 % 국외 : 0.5 %
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		-
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		3 위

- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3년			
	소요예산(백만원)	5,000			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		-	3	10	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	-	0.5	2.0
		국외	-	0.5	2.0
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	Phytosalt(미세분말 타입)의 B to B제품을 시작으로 식품회사의 소재로 판매 시작, 이후 소 포장(30~60g) 단위의 개별 소비자 판매용으로 개발. 추가 기능성 연구에 대한 R&D를 지속하여 후속 모델 진행중.			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	-	1	2	
	수 출	-	2	8	

제 4 장. 목표달성도 및 관련분야 기여도

		코드번호	D-06
○ 1차년도			
세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	달성도 (%)
염화나트륨 함량 30~50% 줄인 저나트륨 식물성 소금대체재 제조기술 개발	통통마디 추출액의 나트륨(Na)과 칼륨(K) 용해도 및 미네랄과 유기물의 함량 비율을 조절하여 염화나트륨 30~50% 줄인 저나트륨 식물성 소금대체재 제조기술 개발	여과(정밀여과, 한외여과) 방법 및 다양한 Pore Size 여과 필터를 활용하여 유기물 및 미네랄의 함량 비율을 조절함으로써 저나트륨 식물성 소금대체재 제조 기술 개발	100
		정제 과정에서 사용되는 활성탄, 규조토 등의 여과제의 종류와 사용량, 방법에 따른 유기물과 염화나트륨을 포함하는 미네랄의 함량 비율 조절에 의한 저나트륨 식물성 소금대체재 제조기술 개발	100
		온도에 따른 무기염의 용해도(solubility) 차이를 활용한 NaCl 제거 및 글루탐산 증가를 통한 염도 및 감칠맛을 조절한 최적의 저나트륨 식물성 소금대체재 기술 개발	100
통통마디의 식물성 미네랄 성분 추출, 정제 공정 최적화를 통한 식물성 소금대체재 소재화 기술 개발	활성탄 등의 탈색/탈취제 종류와 함량에 따른 이미/이취 제거 능력, 색도 분석 및 맛의 다양화 기술 개발	통통마디의 추출을 위한 마쇄, 착즙, 저온 감압 추출, 무압력 추출, 압력 열수 추출 등 다양한 추출 방법 실험 수행 및 성능 비교	100
		활성탄의 종류(식물계 활성탄 Vs 석탄계 활성탄 등), 활성탄의 형상(분말 활성탄 Vs 입상 활성탄), 활성탄의 종류, 첨가량, 처리 온도 등의 따른 탈색 및 탈취 효과 비교 분석	100
		규조토, 활성백토, 이온교환수지, 합성흡착제 등을 사용한 통통마디 추출액의 이미 이취 및 탈색 효과 비교 분석	100
		추출액을 가열 및 농축하여 성분의 열변성을 통한 이미 이취 성분의 응집 제거 방법 비교 분석	100

다양한 고객층의 Needs에 부합하기 위하여, 식물성소금 대체재의 염도 다양화(세분화) 기술 개발	식물성 소금대체재의 미네랄과 유기물의 함량 비율을 조절함으로써 염도를 다양화 하는 기술 개발	다양한 Pore Size 여과 필터를 활용하여 식물성 소금대체재의 미네랄과 유기물의 함량비율을 조절함으로써 염도를 다양화(세분화)하는 기술 개발	100
		어린이, 임산부, 노약자 등을 위하여 염화나트륨 함량은 낮고 유기 영양소의 함량 비율이 높은 저나트륨 식물성 소금대체재 제조 기술 개발	100
글로벌 식품회사 샘플테스트 및 맛 다양화 연구	글로벌 식품회사 1개사와 샘플테스트 및 국제 협력 추진	글로벌 식품회사 3개사와 샘플테스트를 진행하고 있으며, 식물성 소금대체재를 자사 제품에 적용하기 위한 내부 인증절차((homologation process)를 진행 중에 있음	100
		글로벌 식품회사와 추진 중인 신개념의 조미소재 개발 공동연구를 위하여 실무자가 당사를 방문하여 향후 공동 연구 추진에 합의하고 MOU 체결함	100
건강 기능성 테스트 위한 동물실험	rat을 대상으로 심혈관계 건강 기능성을 테스트하는 동물 실험	식물성 소금대체재의 혈압 영향 평가를 시험하기 위하여 Sprague- Dawley rat 와 자연발증 고혈압 동물인 SHR (Spontaneously Hypertensive Rat)을 대상으로 식물성 소금대체재를 시험 물질로 동물실험을 수행하고 있음. 이를 위하여 G1: 부형제대조군 (SD), G2: 부형제대조군 (SHR), G3: NaCl 800 mg/head/day 투여군 (SD), G4: NaCl 800 mg/head/day 투여군 (SHR), G5: 파이토솔트 1400 mg/head/day 투여군 (SD), G6: 과징이토솔트 1400 mg/head /day 투여군 (SHR) 등 6개 군의 rat를 대상으로 8주간 시험을 진행 중임	100

○ 2차년도

세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	달성도 (%)
식물성 소금대체재의 물성 개선 및 제형다양화를 통한 부가가치제고 및 수출 상품화	다양한 식품 품목군에 적합한 제품의 물성(염도, 입자크기, 흐름성, 색도 등) 특성 분석	입자크기, 염도, 색도 등을 달리한 여러 가지 제형을 다양한 식품 품목군에 적용하여 특성을 분석	100
	분말 제품, 과립 제품 등 다양한 제형 개발	분무건조기를 이용한 분말화를 통해 B2B용 제품 개발 (1kg, 3kg, 10kg, 20kg 파우치 또는 지대 포장) 분말의 과립화를 통한 B2C용 제품 개발 (30g, 60g 유리병 포장)	100
식물성 소금대체재의 건조공정 최적화 및 입도 제어를 통한 염미 강도 조절	추출액의 농축정도, 유기물 함량 정도, 노즐의 크기 등 다양한 건조 조건 분석	분무건조, 동결건조 등 추출액의 건조방법에 따른 수율측정 및 효율성 비교	100
	추출액의 농축정도, 유기물 함량 정도, 노즐의 크기 등 다양한 입도 조건 분석	추출액의 유기물함량, 분무건조기의 분무속도, 온도 등 다양한 조건에 따른 건조 실시 및 방법 확립	100
산화에 의한 갈변 및 산화취 제거 공정 개발	산화에 의한 갈변 및 산화취를 최소화 할 수 있는 농축 온도 및 압력 최적 조건 도출	분무건조기를 통해 건조되는 입자를 바탕으로 그레놀화를 통해 입자의 크기를 다양화	100
식물성 소금대체재의 대량생산을 위한 공정 개발	생산공정 매뉴얼 개발/단위공정 보완/최적화 연구	중탕 방식의 감압농축을 통해 색상변화를 최소화 할 수 있는 조건 확립	100
식물성 소금대체재의 관능평가(Sensory Test)를 통한 기호성 개선	식물성 소금대체재의 관능평가를 위한 관능평가 기법 체계 확립 및 기호성 개선	대량생산을 위한 단위공정 및 전체공을 최적화한 공정흐름도 개발	100
	전문 관능 평가단 활용한 관능평가(Sensory Test)를 통한 기호성 개선	식물성 소금대체재의 기호도 조사에 적합한 평정법의 관능평가 방법 개발 (맛, 색, 향, 전체적인 기호도)	100
글로벌 식품회사가 주문하는 맛(customized flavor)을 개발하기 위하여 식물성 소금대체재	글로벌 식품회사가 주문하는 맛을 내는 식물성 소금대체재 개발 및 수출 상품화	식물성 소금대체재의 관능평가 결과에 따라 수정·보완점을 파악하여 기호성을 개선한 제품 개발	100
	통통마디 가수분해물의 발효를 통한 고부가가	- 우마미(Umami) 맛을 내는 글루탐산 (Glutamic Acid)의 함량을 조절하여 글	100

<p>맛의 다양화에 대한 공동연구 및 수출 상품화</p>	<p>치 식물성 소금대체재 개발 (발효에 필요한 포도당, 설탕 등의 인위적 첨가물을 사용하지 않는 방식으로)</p>	<p>로벌 식품회사가 요구하는 다양한 맛 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> - 일체의 첨가물을 넣지 않고 100% 통통마디 만을 활용하는 방식으로 개발 - 글로벌 식품회사의 sample test 실시 및 결과 feedback을 통한 글로벌시장 적용 제품 개발 	
	<p>수출 및 판매를 위한 최적 포장 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 발효 및 효소 처리 가수분해물의 발효를 통한 식물성 소금 대체 소재의 특성 평가 - <i>Corynebacterium glutamicum</i> 발효균에 의한 ‘감칠맛’이 증대된 식물성 소금 대체재 개발 - 발효에 의한 식물성 소금대체재로서의 특성 분석(염도, 맛, 미네랄 성분의 변화 등) - 발효 미생물 종류에 따른 식물성 소금 대체재 특성 변화 관찰 - 식물성 소금대체재의 분리 공정 설정 - 식물성 소금대체재 생산을 위한 발효 조건의 최적화 	100
<p>기능성이 강화된 소금대체재 개발</p>	<p>Ethanol 추출 등의 유기용매 추출법을 이용한 통통마디의 기능성 물질 추출</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 알루미늄 파우치 포장을 통한 B2B 판매용 제작 - 소포장(30g, 60g)을 통한 Table salt type B2C 판매용 제작 	100
<p>동물실험을 통한 식물성 소금대체재의 건강 기능성 규명</p>	<p>‘생리활성 기능이 강화된 식물성 소금대체재’의 혈압 강하 기능을 테스트하는 rat을 이용한 전임상 시험</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 다양한 유기용매 등으로 통통마디 전초로부터 유용 생리활성 물질의 분리 실험 - 열수 추출 후 남은 통통마디로부터 유기용매 등에 의한 생리활성 물질을 분리 후 전초를 이용하는 분획과의 비교를 통해 열수추출에 이용되는 통통마디 전체를 이용할 수 있는 방안 마련 - 유기용매 등으로 추출된 기능성 물질을 열수추출물과 혼합하여 기능성 물질이 강화된 식물성 소금대체재의 개발 및 기능성 규명을 위한 동물실험의 샘플 마련 	100

4-2. 관련분야 기여도

- 100% 식물성 소금 대체제는 지금까지 없었으며 본 연구기관이 최초로 특허 받은 제조 아이디어 기술임. 따라서 본 과제를 통해 개발된 모든 기술과 제품이 최초로 소금 대체제 시장에 기여하는 바가 될 것임.
- 본 과제를 통해 100% 식물성 소금대체제를 개발함 (기여도 100%)
- 소금대체제의 제형 다양화를 통해 제품 사용 용도의 다양화를 꾀함 (기여도 100%)
- 유기물 함량을 조절하여 다양한 염도의 제품으로 개발이 가능함 (기여도 100%)
- 발효 파이토솔트 제작 기술을 보유하여 다양한 맛과 향 등의 천연적 첨가가 가능함 (기여도 100%)

제 5 장. 연구결과의 활용계획

코드번호

D-07

1. 활용 방안

가. 제품의 원가 분석

- 식물성 소금대체재의 원료인 통통마디를 3.3m²(1평)에 18kg의 생초를 수확할 수 있으며 생초의 수율이 6%인 경우 생초 1kg 당 60g의 식물성 소금대체재를 생산할 수 있음.
- 가정용 식물성 소금대체재는 60g 포장으로 판매될 예정으로 있어 이의 원가를 분석해보면 재료비, 노무비, 경비 등 제조원가가 987원, 판매비, 이익을 포함하여 판매가가 1,725원으로 계산됨

<표> 가정용 식물성 소금대체재(60g포장) 판매가 분석 (단위: 원)

구 분		금액
제조원가	재료비	750
	노무비	75
	경비	162
	소계	987
판매비		99
이익		639
판매가		1,725

나. 개발 제품의 특성 및 경쟁력

- 개발 제품은 100% 통통마디 작물을 원료로 만들어진 분말 형태로 나트륨 함량은 낮고, 체내의 나트륨 배설을 돕는 칼륨이 적정량 함유되어 있는 ‘식물성 저나트륨 소금대체재 (Plant-Made Low-Sodium Salt Substitute)’임
- 식물 고유의 신진대사에 의한 완벽한 ‘미네랄 밸런스(mineral balance)’ 소금이며 필수 아미노산을 포함한 18종의 각종 아미노산을 함유한 고영양 제품이며 천연의 글루타민산을 다량 함유하여 맛있는 소금대체재임
- 미네랄과 유기영양소의 비율을 조절하여 ‘짠맛’을 세분화함으로 다양한 염도(NaCl 50%-70%)로 제조 가능하여 다양한 소비자들의 니즈에 부합함
- 개발제품은, 해수나 암염으로부터 얻어지는 기존의 ‘광물성 무기미네랄 소금’과는 다른 새로운 개념의 ‘100% 식물성 유기미네랄 소금’

PhytoSalt Patent List

No.	Country	Current Status	Patent No.	Issue Date	Title	Ownership
1	US	Registered	US8420152	2013.04.16	Salicornia SPP.-derived salt and its production process	PhytoCorporation
2	China	Registered	0880013938.X	2015.01.08	Salicornia SPP.-derived salt and its production process	PhytoCorporation
3	Japan	Registered	5561161	2014.06.20	Salicornia SPP.-derived salt and its production process	PhytoCorporation
4	England	Registered	2144516	2013.07.10	Salicornia SPP.-derived salt and its production process	PhytoCorporation
5	Germany	Registered	2144516	2013.07.10	Salicornia SPP.-derived salt and its production process	PhytoCorporation
6	France	Registered	2144516	2013.07.10	Salicornia SPP.-derived salt and its production process	PhytoCorporation
7	Italy	Registered	2144516	2013.07.10	Salicornia SPP.-derived salt and its production process	PhytoCorporation
8	Spain	Registered	2144516	2013.07.10	Salicornia SPP.-derived salt and its production process	PhytoCorporation
9	Ireland	Registered	2144516	2013.07.10	Salicornia SPP.-derived salt and its production process	PhytoCorporation

○ 개발제품의 원천기술은 한국(등록번호: 10-0784229), 미국, 유럽, 일본 등에 특허(물질특허)로 등록 되었으며, 현재 중국, 인도 등에 출원 중이므로 글로벌 시장에서의 경쟁력이 매우 높음

다. 제품의 해외 경쟁력 분석

○ 미국의 주요 저나트륨 소금대체제 제품의 가격을 보면 60g 당 미화 0.8-6.34 달러로서 본 과제 연구결과 식물성 소금대체제 제품 판매가인 1,725원은 충분한 가격 경쟁력을 가지고 있음

표. Low Sodium Salt Substitute 제품 가격 분석

가격단위: US\$

제품명	제조사	특징	판매단위	가격	60g당 가격
Low Sodium Sea Salt	NutraSalt	66% lesser sodidum	온스	0.94	1.99
Lite Salt	Morton	50% sodium	11 온스	6.49	1.25
Salt Substitute	Morton	sodium free	18.7온스	17.05	1.93
Salt Free Creole Seasoning	Tony Chachere's	sodium free (potassium salt)	8 온스	5.96	1.58
USDA Organic No-Salt Seasoning	Kirkland Signature	sodium free	14.5 온스	14.54	2.12
Nu-Salt	Sweet 'N Low	sodium free	36온스	13.68	0.80
Iodized Salt	LoSalt	66% less sodium	37 온스	17.99	1.03
Reduced Sodium Salt	LoSalt	66% less sodium	12.35온스	24.99	4.28
Table Tasty No Potassium Chloride Salt Substitute	Benson's Gourmet Seasonings	sodium free	2온스	5.99	6.34

* 자료: Amazon.com 에서 Low Sodium Salt Substitute 카테고리 판매하고 있는 제품

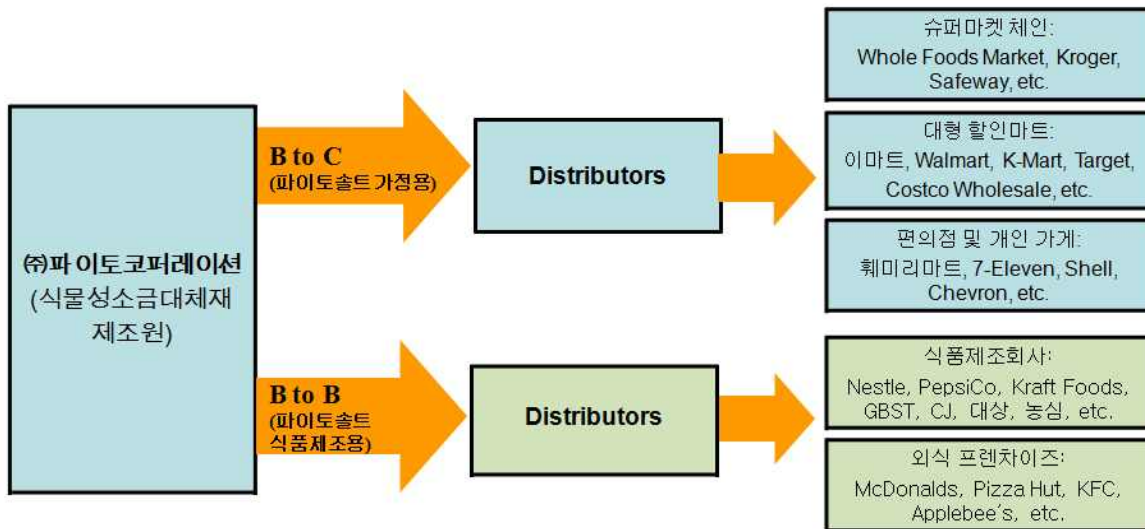
- 해외에서 출시되는 저나트륨 소금 제품들의 특징을 살펴보면 염분은 평균 50%정도 감소했고, 염화칼륨을 사용하여 나트륨을 대체하거나 짠맛을 보강한 제품들이 대부분임. 또한 천일염이나 요오드산칼륨을 사용한 제품들도 출시되고 있음
- 염화칼륨을 사용한 저나트륨소금은 ‘나트륨 대 칼륨’의 함량비가 ‘0:1~1.5:1’ (주로 1:1)로 칼륨의 함량이 지나치게 높으며 칼륨의 과다 함유로 고칼륨혈증을 일으켜 신장이 좋지 않은 사람에게 치명적일 수 있는 문제점이 있어서 전 세계적으로, 저나트륨소금은 “건강하지 않은 경우 의사의 승인을 얻은 후 사용하라” 는 ‘식약청 경고 문구’를 표기하여 판매하고 있음
- 반면, 본 연구의 결과로 개발되는 100% 식물성 소금대체제는 인체에 유익한 미네랄과 생리활성 물질들이 풍부하고 가격도 선진국 제품에 비하여 크게 높지 않아 선진국에서 충분한 제품 경쟁력을 가지고 있음

라. 국내외 글로벌 식품회사와의 협력 및 수출 상품화

- 식물성 소금대체제의 대량구매 의향을 밝힌 글로벌 식품기업들과 샘플테스트, 기호 조사, 완제품 수출 추진

마. 국내외 마트, 기관, 가정에 보급

- 마케팅 전략
 - 해외시장: B to B 및 B to C
 - 국내시장: B to B 및 B to C
- 유통망 전략
 - 가정용은 ‘B to C’ 전략: 슈퍼마켓 체인, 대형 할인마트, 편의점 및 개인가게 대상
 - 식품제조용은 ‘B to B’ 전략: 식품제조회사, 외식 프랜차이즈 대상
 - 홈페이지, 온라인 광고, SNS 광고 등을 통한 홍보 확대
 - 글로벌 기업을 대상으로 한 직판 및 유통망 활용 전략 도입
 - 국내외 식품 박람회 참여 및 부스 운영을 통한 판로 및 유통망 확대



2. 기대성과

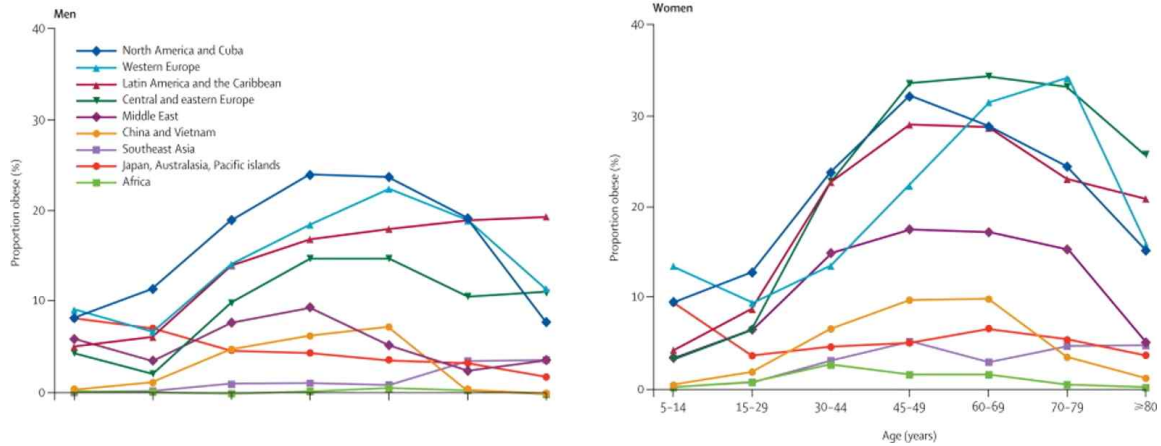
- 글로벌 식품회사 및 식품 판매 마트를 대상으로하는 식물성 소금대체재 시장 개발 및 진입에 따른 경제적 효과
- 신소재 식물성 저나트륨 소금 대체재 개발을 위한 최적 제조공정 개발
 - 통통마디의 유기미네랄 추출공정 최적화 및 수율 제고
 - 이미 이취 제거 및 기호도 증진을 통한 상품성 제고
- 식물성 유기미네랄 급원으로서의 통통마디의 활용을 통한 국민건강증진
- 폐 염전, 해안가의 유휴 토지 등 경제성이 없는 간척지 및 고염도 농지의 통통마디재배를 통한 농가수익 증대 효과 도모
- 식물성 소금대체재는 적정량의 요오드(I)를 함유함으로써 전세계 20억 명에 이르는 요오드 결핍 문제를 해결할 수 있음 (현재 WHO의 '요오드 강화 소금 계획'에 70 여 국가 참여함. 중국, 호주, 캐나다는 소금에 요오드 첨가 의무화)

제 6 장. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

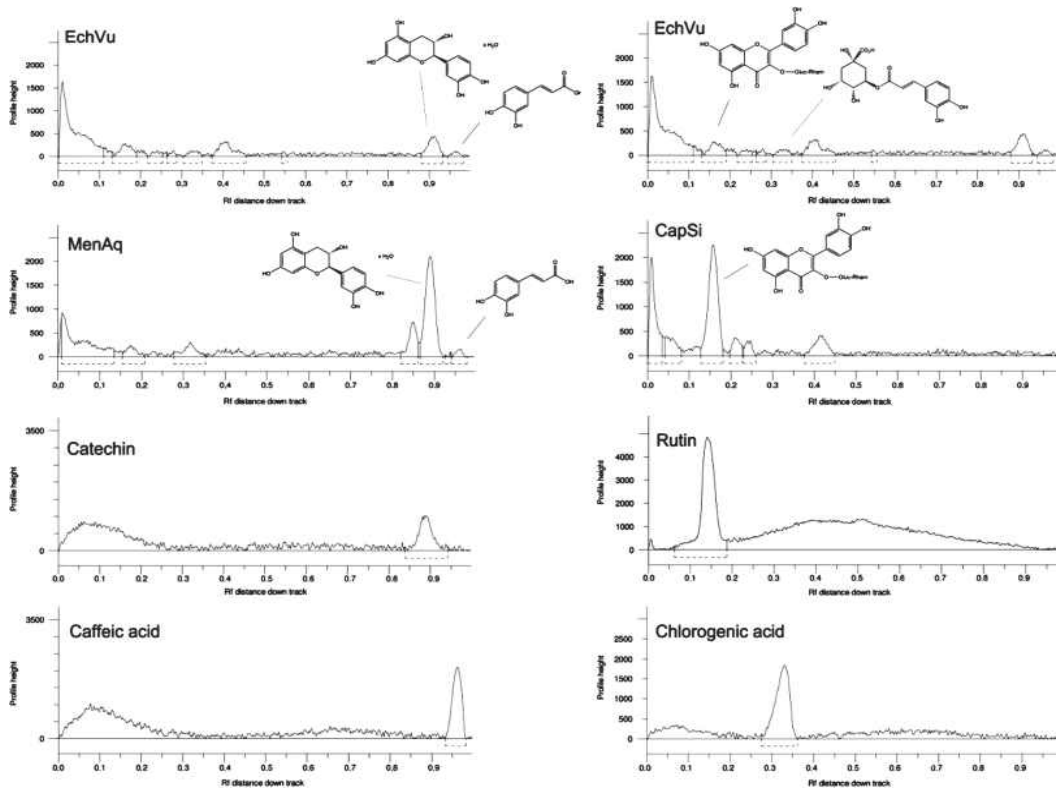
코드번호

D-08

- 전세계 비만 인구의 성(여성, 남성) 및 연령에 따른 WHO 분석 결과 전세계 인구의 1/3이 비만인구임 (Haslam DW, James WP. 2005. Obesity. *Lancet*1:1197-1209).



- 항비만에 효과적인 식물 성분 분석결과 다양한 폴리페놀이 효과적임.(Marrelli M, Loizzo MR, Nicoletti M, Menichini F, Conforti F. 2014. In vitro investigation of the potential health benefits of wild Mediterranean dietary plants as anti-obesity agents with alpha-amylase and pancreatic lipase inhibitory activities. *J Sci Food Agric* 94:2217-2224)



제 7 장. 연구개발결과의 보안등급

		코드번호	D-09
보안등급 분류	보안	일반	
		√	
결정 사유	「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조의4에 해당하지 않음		

제 8 장. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

					코드번호	D-10		
구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호
	-							

제 9 장. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

코드번호 D-11

1. 기술적 위험요소 분석
 가. 연구실 안전 점검 체계 및 실시
 (1) 실험실 안전 점검 체계



나. 실험실 안전점검

- (1) 실험실 일상 점검
 - 연구활동 시작 전 각 실험실 책임자가 육안으로 장비 및 시설을 매일 점검.
- (2) 실험실 정기 점검
 - 내용 : 과학기술분야 실험실의 일반안전, 산업위생, 전기안전, 소방안전, 화공안전, 가스안전, 기계안전, 생물안전 등의 전문분야 점검
 - 실시 : 매월 각 실험실을 주기적으로 점검
- (3) 실험실 정밀안전진단
 - 대상 : 연구개발활동에 유해화학물질 관리법 제2조 7호에 따른 유해화학물질을 취급하는 연구실, 산업안전보건법 제39조에 따른 유해인자를 취급하는 연구실, 과학기술부령이 정하는 독성가스를 취급하는 연구실.(우리대학은 실험실관리등급 A, B급에 해당하는 실험실)
 - 실시 : 매년 1회 이상 외부 전문기관에 의뢰하여 실시 후 중대결함이 발견될 경우, 보고 및 조치

※ 관리위험등급의 지정

- A등급 : 가연성가스, 인화성 시약, 유해화학물질, 다량의 폐액배출, 독극물, 생물 및 동물, 방사성 동위원소, 위험성이 높은 기계장비가 설치된 실험실
- B 등급 : 일반시약, 소규모 인화성 시약, 불연성가스, 소량의 폐수발생실험실
- C 등급 : 이화학실험을 수행하지 않는 전기, 설계, 컴퓨터 관련 실험실

다. 교육 훈련

- (1) 개요 : 실험실의 안전을 확보하고 종사자의 건강을 보호하여 실험 및 연구활동에 기

여하고, 또한 연구실 안전환경조성에 관한 법률에 의거하여 실험실의 환경안전 교육이 의무화됨에 따라 관련자 전원은 환경안전교육을 의무적으로 수강

(2) 교육대상 : 직원

(3) 교육실시

- 1학기 : 법정 교육시간인 6시간을 온라인 및 집합교육으로 실시
- 2학기 : 법정 교육시간인 6시간을 온라인 교육으로 실시

라. 건강 검진

- (1) 개요 : 인체에 치명적인 위험물질 및 바이러스 등에 노출될 위험성이 있는 연구활동 종사의건강을 보호함.
- (2) 대상 : 산업안전보건법 시행령 제29조에 따른 유해물질 및 같은 법 시행규칙 별표 12의2에 따른 유해인자를 취급하는 연구활동 종사자에 대하여 일반건강검진 과 특수건강검진을 실시
- (3) 건강검진 실시 : 매년 1회 건강검진 대상자를 선정하여 건강증진센터에 의뢰하여 일반 건강검진 및 특수건강검진 실시

마. 추가 이행 계획

1) 실험실 안전환경 개선	노후 실험실 개선공사 시행(흡후드 개선 등)
2) 실험실 소방설비 개선	실험실에 설치되어 있는 노후 소방시설을 개선하여 신속한 화재경보 및 소화활동 실시
3) 실험실 전기 안전관리	비접지형 콘센트 노후 분전반 교체 등
4) 고압가스 안전관리	안전시설 설치(전도방지장치 등)
5) 안전보호장비 설치	1. 개인용 보호장비 구매 2. 시약장 안전가이드바 설치 3. 밀폐형 시약장 설치

2. 안전관리대책

가. 연구실의 안전관리 추가 이행 계획

- 연구실 작업환경 개선을 위한 폐기물함 커버 구입
- 인화성 물질 보관함 구입 및 비치
- 화재 대비용 소화기 지속적 점검 및 관리
- 눈에 이물질이 들어가는 것을 대비한 연구용 고글구입 및 사용교육
- 눈에 이물질이 들어갔을 경우에 대비해 아이워셔 구입 및 비치
- 유해화학물질 사용에 필요한 마스크 비치 및 지속적인 후드의 상태 점검

제 10 장. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	특허	관능성 및 기능성이 강화된 통통마디 유래의 염미 소스 및 그 제조 방법	-(주)파 이토코 퍼레이 션	출원인	대한민국 특허청	출원 번호: 10-2 015- 0154 424	2015.11.04	단독사사	
2	특허	염생식물 유래의 탈염 및 기능성이 강화된 영양 조성물과 그 제조방법	-(주)파 이토코 퍼레이 션	출원인	대한민국 특허청	출원번 호: 10-201 6-0055 486	2016.05.04	단독사사	
3	특허	안지오텐신 전환효소 저해활성을 갖는 통통마디 유래의 5-deoxy-irilin B 및 이를 함유하는 조성물	-(주)파 이토코 퍼레이 션	출원인	대한민국 특허청	출원번 호: 10-201 6-0145 862	2016.11.03	중복사사	
4	논문	Protective Effect of Salicornia europaea Extracts on High Salt Intake-Induced Vascular Dysfunction and Hypertension	-목포대 학교 -(주)파 이토코 퍼레이 션	공동저 자	<i>Internatio nal Journal of Molecular Sciences</i>	3.257	2016.07.01	단독사사	SCI
5	논문	Desalted Salicornia europaea powder lowers body fat and cintrols obesity by suppressing adipogenic related factors	-노터스 (구, 한국동 물의과 학연구 소)	공동저 자	<i>Journal of Science of the Food and Agricuiltu re</i> (투고중)	2.076	2016.12.31	단독사사	SCI

제 11 장. 참고문헌

코드번호	D-14
○ 한국보건산업진흥원. 2012. 소금 섭취량 저감화 사업-가공식품의 나트륨 저감기술 동향 및 적용가이드 개발. 연구보고서 pp. 55-85	
○ World Health Organization. 2012. Potassium intake for adult and children. WHO Guideline pp. 2-14	
○ 식품분석, 김경삼, 2th Ed, 2004, 39p	
○ 환경부. 2014. 전국 폐기물 발생 및 처리현황. pp. 42-50	
○ Ardevol A, Blade C, Salvado MJ, Arola L. 2000. Changes in lipolysis and hormone-sensitive lipase expression caused by procyanidins in 3T3-L1 adipocytes. <i>Int J Obes Relat Metab Disord.</i> 24(3):319-24	
○ Chon JW, Sung JH, Hwang EJ, Park YK. 2009. Chlorella methanol extract reduces lipid accumulation in and increases the number of apoptotic 3T3-L1 cells. <i>Ann NY Acad Sci.</i> 1171:183-9	
○ Giri S, Rattan R, Haq E, Khan M, Yasmin R, Won JS, et al. 2006. AICAR inhibits adipocyte differentiation in 3T3L1 and restores metabolic alterations in diet-induced obesity mice model. <i>Nutr Metab (Lond).</i> 3:31	
○ Harmon AW, Harp JB. 2001. Differential effects of flavonoids on 3T3-L1 adipogenesis and lipolysis. <i>Am J Physiol Cell Physiol.</i> 280(4):C807-13	
○ Jeon T, Hwang SG, Hirai S, Matsui T, Yano H, Kawada T, et al. 2004. Red yeast rice extracts suppress adipogenesis by down-regulating adipogenic transcription factors and gene expression in 3T3-L1 cells. <i>Life Sci.</i> 75(26):3195-203	
○ Kang SI, Kim MH, Shin HS, Kim HM, Hong YS, Park JG, et al. 2010. A water-soluble extract of <i>Petalonia binghamiae</i> inhibits the expression of adipogenic regulators in 3T3-L1 preadipocytes and reduces adiposity and weight gain in rats fed a high-fat diet. <i>J Nutr Biochem</i> 21:1251-1257	
○ Lee WJ, Koh EH, Won JC, Kim MS, Park JY, Lee KU. 2010. Obesity: the role of hypothalamic AMP-activated protein kinase in body weight regulation. <i>Int J Biochem Cell Biol.</i> 37(11):2254-9	
○ Song Y, Park HJ, Kang SN, Jang SH, Lee SJ, Ko YG, et al. 2013. Blueberry peel extracts inhibit adipogenesis in 3T3-L1 cells and reduce high-fat diet-induced obesity. <i>PLoS One</i> 8:e69925	
○ Spiegelman BM, Flier JS. 2001. Obesity and the regulation of energy balance. <i>Cell.</i> 104(4):531-43	
○ Visscher TL, Seidell JC. 2001. The public health impact of obesity. <i>Annu Rev Public Health.</i> 22:355-75	
○ Yoon SA, Kang SI, Shin HS, Kang SW, Kim JH, Ko HC, et al. 2013. <i>p</i> -Coumaric acid modulates glucose and lipid metabolism via AMP-activated protein kinase in L6 skeletal muscle cells. <i>Biochem Biophys Res Commun</i> 432:553-557	

자체평가의견서

1. 과제현황

				코드번호	D-15
과제번호				114087-2	
사업구분	수출전략기술개발사업				
연구분야	식품			과제구분	단위
사업명	수출전략기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	100% 식물성 미네랄로 구성된 저나트륨 소금대체 소재개발 및 수출전략 상품화			과제유형	(기초, 응용, 개발)
연구기관				연구책임자	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2014.09.25.~2015.09.24	130,000	43,334	173,334
	2차년도	2015.09.25.~2016.09.24	130,000	43,334	173,334
	계	2014.09.25.~2016.09.24	260,000	86,668	346,668
참여기업					
상대국	유럽, 아시아, 미주 권역	상대국연구기관	R&D center		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2016.11.05

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)파이토크퍼레이션	대표이사	김득희

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	--

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수), 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구를 통해 개발한 PhytoSalt는 지금까지 없던 새로운 개념의 100% 식물 유래의 소금 대체재이며 나트륨 및 칼륨, 마그네슘, 칼슘, 철분 등 다양한 식물 유래의 미네랄들을 매우 균형있게 섭취할 수 있는 소금 대체재임. 염생식물 특유의 비린향을 제거하는 데에 성공했으며 분무건조 후 미세 입자에서부터 과립까지 다양한 제형의 제품을 개발함.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수), 우수, 보통, 미흡, 불량)

‘소금’ 하면 떠오르는 것이 과다섭취시 고혈압, 심장질환 등의 성인질환 등을 야기하는 것인데, 본 연구에서 개발한 파이토솔트는 rat을 이용한 동물실험을 통해 일반소금과 동일하게 섭취시 혈압을 오히려 낮추는 효과가 있음을 확인함. 이는 짠맛을 즐기면서도 건강한 삶을 영위할 수 있는 매우 획기적인 연구개발 결과라 할 수 있음. 이는 유명 SCI 저널에도 게재되었으며 대형 글로벌 식품회사들은 파이토솔트의 기능성을 매우 흥미롭게 보고 있음.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수), 우수, 보통, 미흡, 불량)

인류의 생존에 있어서 가장 필요한 것이 물, 소금, 햇빛 등임. 이중 소금을 먹지 않고는 살 수 없음. 파이토솔트는 전세계를 시장으로 하고 있으며 따라서 본 연구에서 개발한 파이토솔트는 그 활용가능성이 매우 큼.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수), 우수, 보통, 미흡, 불량)

(주)파이토코포레이션 연구센터의 연구원들은 연구기간 동안 거의 매일 야근을 감수하며 파이토솔트의 개발에 전념하였음. 그 결과로 성과 목표를 모두 100% 또는 그 이상 낼 수 있었으며 다양한 파이토솔트 시리즈를 개발하게 되었음.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수), 우수, 보통, 미흡, 불량)

당초 계획하였던 비SCI 논문이 아닌 유명 SCI저널에 이미 파이토솔트의 고혈압 효능에 대한 논문이 게재되었으며, 당초 계획하였던 2개의 특허 출원보다 많은 3개의 출원을 달성하였음.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
염화나트륨 함량 30~50% 줄인 저나트륨 식물성소금대체재 기술 개발	15	100	- 염화나트륨 이외에 다른 염과 성분들의 비율을 조절하여 염화나트륨의 함량을 30~50%로 줄임
통통마디의 식물성미네랄 성분 추출, 정제과정 최적화를 통한 식물성소금대체재 소재화 기술 개발 및 상품화	15	100	- 식물성소금대체재의 생산에 적합한 통통마디 추출기술 개발
다양한 고객층의 Needs에 부합하기 위하여, 식물성소금 대체재의 염도 다양화(세분화) 기술 개발 및 상품화	10	100	- 활성탄 처리량의 조절 및 분무건조시 온도 조절 등을 통해 유기물 함량을 조절하여 다양한 염도의 제품을 개발
글로벌 식품회사 등과 식물성소금 대체재 맛의 다양화에 대한 공동연구 및 상품화	15	100	- 글로벌 식품회사에서 샘플테스트를 진행
식물성소금대체재의 입도제어를 통한 제형 다양화	15	100	- 분말형태를 과립화함으로써 제품의 개발 방향을 다양화함
산화에 의한 갈변 및 산화취 억제 공정 개발	10	100	- 갈변 및 산화취를 억제할 수 있는 최적의 농축공정 개발
식물성소금대체재의 대량생산 공정 개발	10	100	- 식물성소금대체재의 대량생산에 적합한 공정라인 개발
'Rat을 이용한 암세포 성장 억제 효과'에 대한 동물실험을 통해 식물성 소금대체재의 기능성 입증	10	100	- 동물실험을 통해 항고혈압 및 항비만 관련 효능을 입증
합계	100점	100	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

본 연구과제를 통해 개발된 Phytosalt 제품은 광물성의 일반 소금과는 달리 순 100% 식물에서 유래한 소금대체제로서, 염생식물이 바닷물의 염농도에 견디며 스스로 체내에 균형을 이룬 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 철분 등의 미네랄들을 그대로 함유하고 있는 제품임. 이는 소금의 섭취에 의해 고혈압 등의 발생이라는 상식을 깨고 오히려 고혈압을 방지하는 데에 도움을 줄 수 있는 기능성을 갖춘 전세계에 유일한 100% 식물성 소금대체제임. 이를 식품에 적용하는데 적합하도록 제형의 변화, 맛의 변화 등 세분화하여 개발함으로써 시제품 생산에서부터 해외 유명 식품회사들의 주목을 받고 있는 수출전략형 제품으로의 개발임.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

-국내에서 재배되는 농작물인 통통마디를 100% 사용하고 있으므로 국내 작물 소비량의 증대에 기여하고 있음.
-제품 개발 중 시제품 개발에서부터 해외 유명 식품회사에서 샘플 요청을 받고 있으며 몇 차례 테스트에서 매우 긍정적인 결과를 주고 받고 있으므로 해외 수출전략 상품으로 그 가치가 매우 높음
-파이토솔트는 전세계에서 단 하나인 제품으로 100% 식물 유래의 소금대체제이자 소금섭취시 문제를 야기하는 질환에 오히려 예방의 효과까지 겸한 제품으로 이미 다양한 제형, 맛 등으로 개발됨.
-지구온난화에 따른 해수 상승으로 밭작물의 면적은 줄어드는 반면, 염이 침투해 버려지는 해안가 땅들이 많이 발생하고 있음. 파이토솔트는 이런 염이 많은 토양에서 오히려 잘 성장하는 통통마디 식물을 이용하므로 국토를 유용하게 활용한다는 면에서 거시적이며 경제적인 상품이 될 것임

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

현재 시제품 샘플 테스트 중인 해외 식품 회사와 공동 R&D 등을 통해 제품 생산라인을 확대하여 B to B 제품 생산을 시작할 계획이며, 추후 소포장의 가정용 제품으로도 생산 라인을 확대할 계획임.

IV. 보안성 검토

- 본 연구에서 개발된 파이토솔트는 소비력을 갖춘 선진국에는 거의 특허 등록을 마친 상태임. (주)파이토 코퍼레이션에서 생산라인을 정비하고 완전한 상품으로 판매하기 전까지는 본 과제의 연구내용이 비공개로 유지되어, 애써서 개발한 제품이 특허침해 및 도용 등을 당하는 일이 없도록 “비공개”가 필요함.

1. 연구책임자의 의견

- 파이토솔트의 개발 제품에 대한 도용, 특허침해 등을 우려하고 있으며 파이토솔트의 미래 소금시장 개척 가능성이 매우 높으므로 완전한 생산 라인을 갖추기 전까지는 연구내용이 “비공개”로 유지되기를 희망함.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 수출전략기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 수출전략기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.